

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. Juli 2004 (29.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/062657 A1

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 31/198,  
31/401, 31/435, A61P 7/02, 9/00, 9/02, 9/10, 37/00, 37/08,  
43/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/000247

(22) Internationales Anmeldedatum:  
15. Januar 2004 (15.01.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 01 300.8 15. Januar 2003 (15.01.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): CURACYTE CHEMISTRY GMBH [DE/DE];  
Winzerlaer Strasse 2a, 07745 Jena (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STÜRZEBECHER,  
Jörg [DE/DE]; Hubertusstrasse 38, 99094 Erfurt (DE).  
STEINMETZER, Torsten [DE/DE]; Ricarda-Huch-Weg  
23, 07743 Jena (DE). SCHWEINITZ, Andrea [DE/DE];  
Mühlenstrasse 43, 07745 Jena (DE).

(74) Anwalt: BÖSL, Raphael; Prinzregentenstr. 68, 81675  
München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT,  
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden  
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen  
eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: ACYLATED 4-AMIDINO- AND 4-GUANIDINO BENZYLAMINES FOR THE INHIBITION OF PLASMA  
KALLIKREIN

(54) Bezeichnung: ACYLIERTEN 4-AMIDINO- UND 4-GUANIDINO BENZYLAMINEN ZUR INHIBIERUNG VON PLAS-  
MAKALLIKREIN

(57) Abstract: The invention relates to the use of acylated 4-amidino- or 4-guanidinobenzylamines of general formula (I)  
P4-P3-P2-P1 (I), where P4 is a mono- or poly-substituted or unsubstituted benzylsulphonyl group, P3 is a mono- or poly-substituted  
or unsubstituted, natural or unnatural  $\alpha$ -amino or  $\alpha$ -imino acid with the D-configuration, P2 is a mono- or poly-substituted or  
unsubstituted natural or unnatural  $\alpha$ -amino or  $\alpha$ -imino acid with the L-configuration and P1 is a mono- or poly-substituted or  
unsubstituted 4-amidino- or 4-guanidinobenzylamine group, for the inhibition of plasma kallikrein (PK), factor XIa and factor XIIa,  
in particular for the prevention of coagulation activation on synthetic surfaces and for systemic dosage as anticoagulants/antithrom-  
botics, above all for prevention of coagulation activation on synthetic surfaces to prevent thromboembolic events.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß  
der allgemeinen Formel (I) P4—P3—P2—P1 (I), wobei P4 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte Benzyl-  
sulfonylgruppe ist, P3 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  
 $\alpha$ -Iminosäure in der D-Konfiguration ist, P2 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatür-  
liche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der L-Konfiguration ist, und P1 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte  
4-Amidino- oder 4-Guanidino-benzylamingroupe ist, zur Inhibierung von Plasmakallikrein (PK), Faktor XIa und Faktor XIIa, ins-  
besondere zur Verhinderung der Gerinnungsaktivierung an künstlichen Oberflächen und zur systemischen Gabe als Antikoagulan-  
zien/Antithrombotika, vor allem zur Verhinderung der Gerinnungsaktivierung an künstlichen Oberflächen zur Vorbeugung throm-  
boembolischer Ereignisse.

WO 2004/062657 A1

## ACYLIERTEN 4-AMIDINO- UND 4-GUANIDINO BENZYLAMINEN ZUR INHIBIERUNG VON PLASMAKALLIKREIN

5

Die Erfindung betrifft die Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel  $P4-P3-P2-P1$  (I), wobei P4 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte Benzylsulfonylgruppe ist, P3 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der D-Konfiguration ist, P2 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der L-Konfiguration ist, und P1 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamingruppe ist, zur Inhibierung von Plasmakallikrein (PK). Dabei werden die neuen PK-Inhibitoren zur Verhinderung der Gerinnungsaktivierung an künstlichen Oberflächen und zur systemischen Gabe als Antikoagulanzen/Antithrombotika, vor allem zur Verhinderung der Gerinnungsaktivierung an künstlichen Oberflächen eingesetzt, um thromboembolischen Ereignissen vorzubeugen.

Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung die neuen acylierten 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamine an sich, wobei insbesondere solche bevorzugt sind, die eine Linkergruppe an P2 oder P4 aufweisen, wobei insbesondere bevorzugt diese Linkergruppen Oligo- oder Polyalkylenglycole sind.

Ebenso betrifft die vorliegende Erfindung auch die Verwendung der oben genannten acylierten 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamine zur Inhibierung von Faktor XIa und/oder Faktor XIIa. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung ist auch die Verwendung der oben genannten Verbindung zur Inhibierung von Thrombin und Prothrombin beschrieben.

PK ist eine multifunktionelle, trypsinartige Serinprotease für die mehrere physiologische Substrate bekannt sind. So kann PK durch proteolytische Spaltung das vasoaktive Peptid Bradykinin aus hochmolekularem Kininogen freisetzen und die Proteasen Gerinnungsfaktor XII, Pro-Urokinase, Plasminogen und Pro-MMP 3 aktivieren. Deshalb wird angenommen, dass das PK/Kinin-System eine wichtige Rolle bei verschiedenen Krankheitsbildern besitzt, so z.B. bei thromboembolischen Situationen, der disseminierten intravasalen Ge-

rinnung, septischem Schock, Allergien, dem Postgastrektomiesyndrom, Arthritis und ARDS (adult respiratory distress syndrome) (Tada et al., Biol. Pharm. Bull 24, 520-524, 2001).

Durch Aktivierung des Gerinnungsfaktors XII zu Faktor XIIa spielt PK vor allem bei der  
5 Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade eine Rolle. Eine Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade kann stattfinden, wenn Blut in extrakorporealen Blutkreisläufen in Kontakt mit künstlichen Oberflächen kommt, so z.B. bei der Hämodialyse oder bei der Verwendung von Oxygenatoren. Durch die Bindung von Faktor XII an insbesondere negativ geladene und/oder künstliche Oberflächen wird über Autoaktivierung bzw. durch Spu-  
10 ren von PK die intrinsische Gerinnungskaskade angestoßen (Kaplan, Prog. Hemostasis Thromb. 4, 127-175, 1978). Der aktivierte Faktor XII (F XIIa) katalysiert die Umwandlung von Plasmapräkallikrein zu PK, das - im Sinne eines positiven Feedback - die weitere Bildung von Faktor XIIa bewirkt (Griffin, Proc. natl. Acad. Sci. USA 75, 1998-2002, 1978). Entsprechend der Bedeutung von Faktor XIIa und PK in der Frühphase der intrinsischen  
15 Gerinnungskaskade sollten auch Inhibitoren dieser Enzyme gerinnungshemmend wirken. Im Rahmen dieser Frühphase der intrinsischen Gerinnungsaktivierung aktiviert Faktor XI-Ia den Faktor XI zu Faktor XIa.

Als Inhibitoren sowohl der intrinsischen als auch der extrinsischen Gerinnungskaskade und damit zur Prophylaxe und Therapie der oben genannten Krankheitsbilder, wie z.B. throm-  
20 boembolischer Situationen, disseminierter intravasaler Gerinnung, septischem Schock, Allergien, dem Postgastrektomiesyndrom, Arthritis und ARDS, werden Antikoagulantien vom Heparin-Typ, Vitamin-K-Antagonisten oder Hirudin eingesetzt. Da die gängigen Antikoagulantien aber nicht allen Anforderungen an ein „ideales“ Antithrombotikum gerecht werden, beispielsweise aufgrund ihrer geringen Spezifität, auftretenden Blutungskomplikationen, geringer Halbwertszeit oder mangelnder oraler Verfügbarkeit, wird versucht, mit  
25 kleinmolekularen Inhibitoren der Gerinnungsproteasen Thrombin und Faktor Xa Alternativen zu entwickeln. Auch Faktor VIIa, das initiale Enzym des extrinsischen Gerinnungsweges, ist ein vielfältig untersuchtes Zielenzym für die Inhibitorentwicklung (Robinson und Saiah, Ann. Rep. Med. Chem. 37, 85-94, 2002). Ein Thrombin- und F Xa-Hemmstoff bzw.  
30 ein F VIIa-Hemmstoff als ein spezifischer Hemmstoff der extrinsischen Gerinnungskaskade besitzt jedoch keine Hemmwirkung auf die z.B. durch Kontakt des Blutes mit künstlichen Oberflächen ausgelöste Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade.

Bei der Suche nach Inhibitoren für die beiden Enzyme Faktor XIIa und PK, die die intrinsische Gerinnung nach Aktivierung an einer geladenen Oberfläche einleiten, gibt es nur wenige Ansätze. Für das Guanidinoalkylcarbonsäure-Derivat FOY (Isobe, Blood & Vessel 12, 135-138, 1981), Leupeptin, den Thrombinhemmstoff Na-Dansyl-L-arginin-4-ethylpiperidid (Ratnoff, Blood 57, 55-58, 1981) und verschiedene Tripeptide (Ester, Amide) (Fareed et al. Ann. N. York Acad. Sci. 370, 765-784, 1981; Silverberg und Kaplan, Blood 60, 64-70, 1982) wurde eine gewisse Hemmwirkung gegenüber Faktor XIIa mitgeteilt. Wirksamere Inhibitoren wurden mit Amidinen der  $N\alpha$ -substituierten 4-Amidinophenyl- $\alpha$ -aminobuttersäure beschrieben (Stürzebecher et al., Zentralbl. Pharm. Pharmakother. Lab. Diagn. 122, 240-241, 1983).

Als PK-Inhibitoren erwiesen sich verschiedene Bis-benzamidine wie Pentamidin und verwandte Verbindungen mit  $K_i$ -Werten um 50  $\mu$ M als wirksam (Ashgar et al., Biochim. Biophys. Acta 438, 250-264, 1976). Auch Ester von  $\omega$ -Amino- und  $\omega$ -Guanidinoalkylcarbonsäuren wurden als PK-Inhibitoren mit mikromolaren  $K_i$ -Werten beschrieben (Muramatu und Fuji, Biochim. Biophys. Acta 242, 203-208, 1971; Muramatu und Fuji, Biochim. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972; Ohno et al. Thromb. Res. 19, 579-588, 1980; Muramatu et al. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 203-211, 1982; Satoh et al. Chem. Pharm. Bull. 33, 647-654, 1985; Teno et al. Chem. Pharm. Bull. 39, 2930-2936, 1991). Die ersten hochselektiven kompetitiven Inhibitoren, die sich vom Arginin bzw. Phenylalanin ableiten, wurde von Okamoto et al. (Thromb. Res., Suppl. VIII, 131-141, 1988) entwickelt und hemmen PK mit  $K_i$ -Werten um 1  $\mu$ M. Von der Gruppe um Okada wurden mehrere Arbeiten zur Entwicklung kompetitiver PK-Inhibitoren veröffentlicht, wobei die wirksamsten Verbindungen, die sich vom trans-4-Aminomethylcyclohexanocarbonyl-Phe-4-Carboxymethylanilid ableiten, Hemmkonstanten um 0,5  $\mu$ M besitzen (Okada et al., Biopolymers 51, 41-50, 1999; Okada et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 10, 2217-2221; 2000, Tsuda et al., Chem. Pharm. Bull. 49, 1457-1463, 2001). Gemeinsam ist den genannten PK-Inhibitoren ihr relativ hoher  $K_i$ -Wert. In WO 00/41531 wurden potente PK-Inhibitoren mit Hemmkonstanten um 1 nM beschrieben, die ein 4-Amidinoanilin als P1 Rest besitzen. Diese in WO 00/41531 beschriebenen Inhibitoren sind jedoch nicht geeignet, um kovalent an künstliche Oberflächen gekoppelt zu werden. PK-Hemmstoffe wurden auch in WO 94/29336 beschrieben. der wesentliche Unterschied zu den Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung besteht darin, dass die in WO 94/29336 enthaltenen Verbindungen nicht den entscheidenden Benzylsulfonylrest (P4)

enthalten. Zudem wurde in WO 94/29336 keine Kopplung der Verbindungen z.B. an künstliche Oberflächen beschrieben.

Inzwischen sind auch einige Übergangszustands-analoge PK-Inhibitoren beschrieben, die ein Arginal (z.B. Adamantylloxycarbonyl-D-Phe-Phe-Arginal,  $K_i$  12 nM, Garrett et al., J. Pept. Res. 52, 60-71, 1998) oder Arginyltrifluormethylketon (z.B. Adamantylloxycarbonyl-D-tert. Butylglycin-Phe-Arg- $CF_3$ ,  $K_i$  2 nM, Garrett et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, 301-306, 1999) als P1-Rest besitzen. Auch für das ursprünglich als Thrombinhemmstoff entwickelte Boroarginin-Derivat DuP 714 (Ac-D-Phe-Pro-Boroarginin) wurde eine starke PK-Hemmung ( $K_i$  1,6 nM) gefunden (Kettner et al., J. Biol. Chem. 265, 18289-18297). Solche Übergangszustands-analogen Proteaseinhibitoren haben jedoch den Nachteil, dass sie nur durch aufwendige Synthesen zugänglich sind, zur Racemisierung neigen und sehr unspezifische Inhibitoren sind.

Eine irreversible Hemmung von PK wird auch durch verschiedene Chlormethylketone erreicht. H-Ala-Phe-Arg $CH_2Cl$  und H-Pro-Phe-Arg $CH_2Cl$  wurden als die reaktivsten Verbindungen beschrieben (Kettner und Shaw, Biochemistry 17, 4778-4784, 1978). Allerdings sind Peptidylchlormethylketone ausschließlich für Forschungszwecke geeignet, da sie in vivo nur eine Stabilität von wenigen Minuten besitzen (Lawson et al., Folia Haematol. (Leipzig) 109, 52-60, 1982; Collen et al., J. Lab. Clin. Med. 99, 76-83, 1982).

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zu Grunde, für therapeutische Anwendungen geeignete Wirkstoffe bereitzustellen, die Plasmakallikrein mit hoher Aktivität und Spezifität inhibieren und die nach Kopplung an eine künstlichen Oberfläche bzw. nach parenteraler, enteraler oder topischer Gabe, insbesondere intravenöser oder subkutaner Gabe gerinnungshemmend wirksam sind.

Überraschend wurde gefunden, dass acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel  $P4-P3-P2-P1$  (I), wobei P4 (in Anlehnung an die Definition nach Schechter und Berger, Biochem. Biophys. Res. Comm. 27, 157-162) eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte Benzylsulfonylgruppe ist, P3 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der D-Konfiguration, P2 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der L-Konfiguration, und P1 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamingruppe, Plasmakallikrein sehr wirksam inaktivie-

ren, auch nach Kopplung an eine künstliche Oberfläche gerinnungshemmend wirksam sind und sowohl parenteral, enteral oder topisch, insbesondere intravenös oder subkutan eingesetzt werden können.

Ein besonderer Vorteil der erfindungsgemäßen Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins ist somit ihre Fähigkeit, PK auch nach der Bindung an eine künstliche Oberfläche mit hoher Aktivität zu inaktivieren. Daher stellen die erfindungsgemäßen Verbindungen eine neue Gruppe von hochaktiven und insbesondere koppelbaren Plasmakallikrein-Inhibitoren dar.

Eine künstliche Oberfläche im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine Oberfläche, die beispielsweise aus Cellulose-Diacetat, Cellulose-Triacetat, Poly(ethersulfon), Poly(arylethersulfon), regenerierter Cellulose, Cuprophan, Hemophan, Poly(sulfon), Poly(acrylnitril), Poly(vinylalkohol), Poly(carbonat), Poly(amid), Poly(methylmethacrylat), Poly(ethylen-co-vinylalkohol) oder einem anderen in Geräten wie Dialysatoren, Oxygenatoren, Kathetern, Membranen und/oder den zu den Geräten gehörenden Schlauchsystemen und Luftfallen, die insbesondere in extrakorporalen Kreisläufen mit Blut in Kontakt kommen, verwendeten Material besteht, wobei die Oberflächenmaterialien gegebenenfalls mit funktionellen Gruppen, z.B. Aminogruppen, Aminoalkylgruppen, Carboxylgruppen, Carboxyalkylgruppen, Mercaptogruppen, Mercaptoalkylgruppen, Hydroxylgruppen, Hydroxyalkylgruppen modifiziert sind, um eine kovalente Kopplung der Inhibitoren zu ermöglichen.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist der Substituent am substituierten P4, P3, P2 und/oder P1 Wasserstoff und/oder ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und/oder Brom und/oder ein substituiertes oder nicht-substituiertes, verzweigtes oder linearer Alkylrest mit 1-6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen, insbesondere Methyl, oder ein substituiertes oder nicht-substituiertes, verzweigtes oder linearer Aralkylrest mit 1-10 C-Atomen ist, wobei der Substituent des substituierten, verzweigten oder linearen Alkylrestes oder Aralkylrestes vorzugsweise eine Halogen-, Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino- und/oder eine Carboxylgruppe, gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl ist, und/oder eine Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino-, Methyloxycarbonyl-, Benzyl-, Benzyloxycarbonyl-, Aminomethyl- oder Glutaryl- oder Succinyl-Amidomethylgruppe ist und/oder eine Oxyalkylcarbonyl, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe ist gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl oder eine Oxyalkylcarbonyl, Carbo-

xyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe, die als unsubstituiertes oder mit einer Alkyl- oder Arylgruppe substituiertes Amid vorliegt.

Falls nicht anders angegeben ist unter einem Alkylrest im Sinne der vorliegenden Erfindung immer ein Alkylrest mit 1-12 C-Atomen zu verstehen, unter einem Arylrest ein Arylrest mit 6 bis 10 C-Atomen und unter einem Aralkylrest ein Aralkylrest mit 6 bis 12 C-Atomen.

Unter einem Niederalkylrest im Sinne der vorliegenden Erfindung versteht man einen Alkylrest mit 1 bis 6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen.

An P4 oder P2 kann zusätzlich eine Linkergruppe gekoppelt sein, wobei die Linkergruppe über einen oben beschriebenen Substituenten an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine -NH- oder eine -CO-Gruppe gekoppelt ist.

Eine Linkergruppe im Sinne der vorliegenden Erfindung ist definiert als eine chemische Struktur, die zumindest eine funktionelle Gruppe zur kovalenten Kopplung an ein acyliertes 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamin über P4 oder P2 aufweist und darüber hinaus entweder zumindest eine zweite funktionelle Gruppe zur gleichzeitigen kovalenten Kopplung an eine künstliche Oberfläche oder gleichzeitigen Kopplung eines zweiten Moleküls des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins aufweist und/oder eine Oligo- oder Polyalkylenglykolgruppe aufweist, die in der Lage ist, durch Interaktion mit der künstlichen Oberfläche nicht-kovalent an diese zu koppeln.

Eine Linkergruppe gemäß der vorliegenden Erfindung ist daher vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome, insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, oder eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglykolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglykolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substitu-

ierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer CH<sub>3</sub>-Gruppe modifiziert ist.

Bei Kopplung der Linkergruppe an P4 ist die Linkergruppe vorzugsweise über eine -NH-Gruppe, -NH-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -CO-Gruppe, eine -CO-Alkyl-Gruppe mit 2-6 C-Atomen, insbesondere -CO-Methyl, eine -CO-O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -S-Gruppe, eine -S-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -SO<sub>2</sub>-Gruppe oder eine -SO<sub>2</sub>-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl an P4 gekoppelt.

- 10 Die Linkergruppe kann statt an P4 auch an P2 gekoppelt sein, wobei P2 vorzugsweise Lysin oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Ornithin, Homolysin,  $\alpha$ - $\gamma$ -Diaminobuttersäure,  $\alpha$ - $\beta$ -Diaminopropionsäure,  $\alpha$ -Diaminoglycin oder Glutaminsäure oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Homoglutaminsäure oder Cystein oder Homocystein  
15 oder Serin oder Threonin ist.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist die an P4 gekoppelte Linkergruppe mit dem Substituenten zur Kopplung an P4 die allgemeine Formel U—Z—Y—X— (II) auf, wobei U gleich eine H<sub>2</sub>N-, HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CO-NH-, HOOC-,  
20 H<sub>2</sub>N-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-CO- oder HS-Gruppe ist mit Z gleich -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- mit n = 1 bis 10, insbesondere 1-5, oder Z gleich ein Oligo- oder Polyalkylenglycol der allgemeinen Formel -  
(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>v</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(NH-CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>- oder -(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-[O-CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>]<sub>v</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(NH-CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>- mit d = 1, 2, 3 oder 4, v = eine ganze Zahl von 1  
bis 1000, bevorzugt 1 bis 50, insbesondere 2 bis 10, m = 0, 1, 2, 3 oder 4 und k = 0 oder 1 oder U gleich eine CH<sub>3</sub>-O-Gruppe ist mit Z gleich ein Oligo- oder Polyalkylenglycol der  
25 allgemeinen Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>v</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(NH-CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>- oder -(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-[O-CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>]<sub>v</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(NH-CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>- mit d = 1, 2, 3 oder 4, v =  
eine ganze Zahl von 1 bis 1000, bevorzugt 1 bis 50, insbesondere 2 bis 10, m = 0, 1, 2, 3 oder 4 und k = 0 oder 1 ist; Y gleich eine -CO-NH-, eine -NH-CO-, eine -SO<sub>2</sub>-NH-, eine -NH-SO<sub>2</sub>-, eine -S-S- oder eine -S-Gruppe ist oder wenn U und Z nicht vorhanden sind  
30 gleich eine H<sub>2</sub>N-, HOOC-, HS-, HO- oder Halogenalkyl-Gruppe ist; X gleich eine -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Gruppe mit n = 0, 1, 2, 3 oder 4, insbesondere n = 1 oder gleich eine -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-Gruppe mit  
Bindung an den Benzylrest über den Sauerstoff und n = 1, 2, 3 oder 4 ist. Die Kopplung



der Linkergruppe an den Benzylrest geht von X falls vorhanden oder von Y, wenn X nicht vorhanden ist, aus.

Wenn der Linker an P4 gekoppelt ist, dann ist P2 Glycin, Alanin, Prolin, Homoprolin oder Azetidincarbonsäure.

- 5 Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Linkergruppe an P2 gekoppelt, wobei P2 die allgemeine Formel III

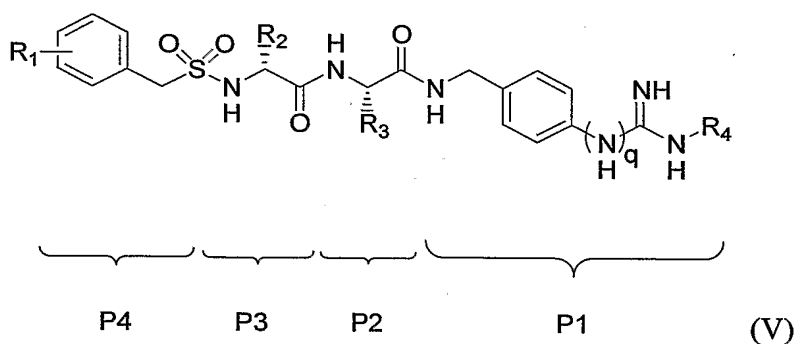


aufweist, wobei  $q = 0, 1, 2, 3, 4$  oder  $5$  ist und D gleich die Formel

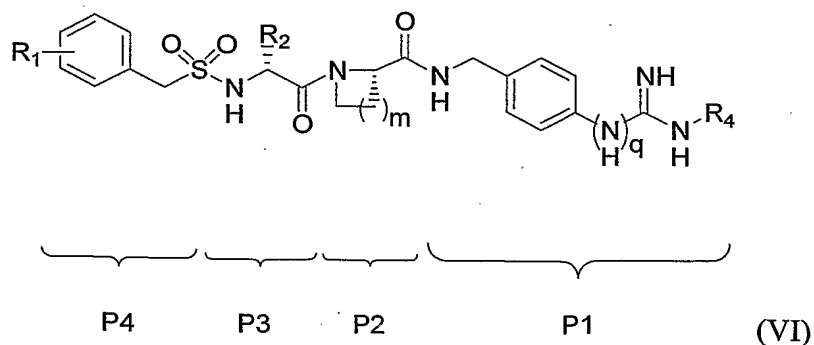


- 10 ist, wobei U, Z und Y die gleiche Bedeutung wie bei Formel II besitzen.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist das acylierte Amidino- oder Guanidinobenzylamin die allgemeine Formel V oder VI auf



15



wobei  $m = 1$  bis 3 und  $q$  gleich 0 oder 1, insbesondere 0 ist und wobei  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  und/oder  $R_4$  Wasserstoff und/oder ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und/oder Brom und/oder ein substituierter oder nicht-substituierter, verzweigter oder linearer Alkylrest mit 1-6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen, insbesondere Methyl ist, wobei der Substituent des substituierten, verzweigten oder linearen Alkylrests vorzugsweise eine Halogen-, Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino- und/oder eine Carboxylgruppe, gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl ist und/oder eine Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino-, Methyloxycarbonyl-, Benzyl-, Benzylloxycarbonyl-, Aminomethyl- oder Glutaryl- oder Succinyl-Amidomethylgruppe ist und/oder eine Oxyalkylcarbonyl, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe ist gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl oder als unsubstituiertes oder mit einer Alkyl- oder Arylgruppe substituiertes Amid vorliegend.

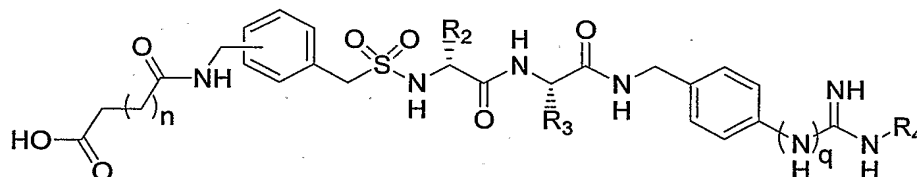
Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Reste  $R_4$  der Hydroxy-, ein Amino- und ein Alkoxycarbonylrest, insbesondere ein Alkoxycarbonylrest mit 2 bis 10 C-Atomen.

$R_1$  und/oder  $R_3$  kann zusätzlich eine Linkergruppe sein, wobei die Linkergruppe über einen oben beschriebenen Substituenten an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine  $-NH-$  oder eine  $-CO-$ Gruppe gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst ist, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome, insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere

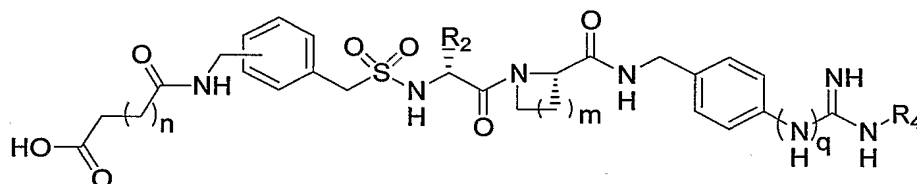
CH<sub>3</sub>-Gruppe modifiziert ist und/oder R<sub>1</sub> zusätzlich die Formel (II) wie oben definiert und P2 mit R<sub>3</sub> zusätzlich die Formeln (III) und (IV), wie oben definiert, aufweist.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele für acylierte Amidino- und/oder Guanidinobenzylamine gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen

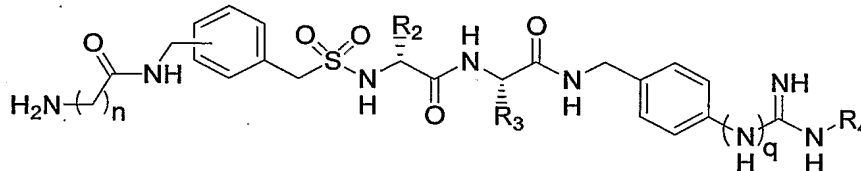
5 Formel II weisen vorzugsweise eine der folgenden Strukturen auf:



oder

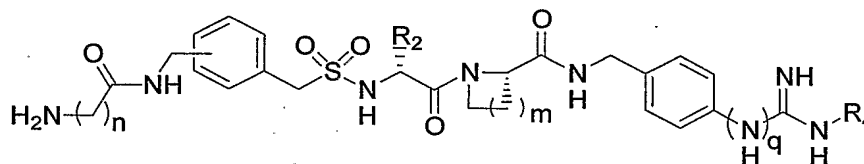


oder



10

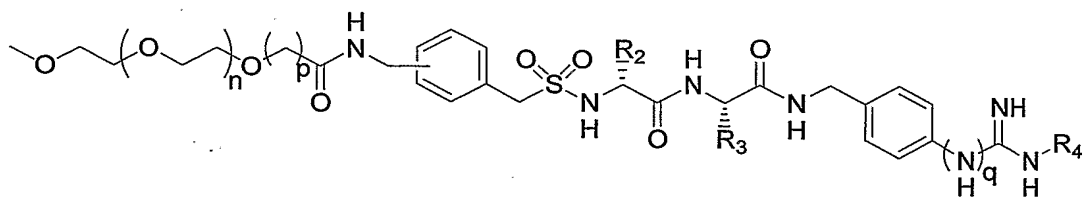
oder



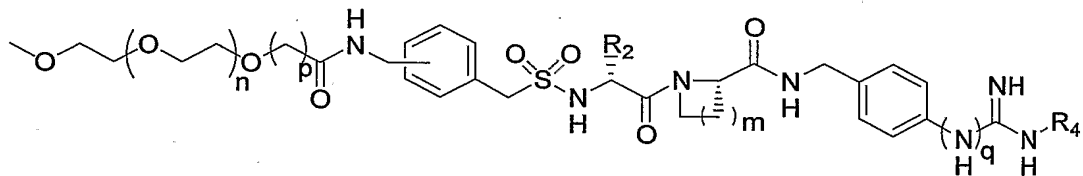
mit  $n = 1$  bis 10,  $m = 1$  bis 3 und  $q = 0$  oder 1, insbesondere 0, wobei R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> die oben genannten Bedeutungen besitzen. Durch das Vorhandensein einer zweiten funktionellen Gruppe wie z.B. H<sub>2</sub>N- oder HOOC- können die aufgeführten Substanzen gleichzeitig mit der Kopplung an P4 kovalent an künstliche Oberflächen gekoppelt werden.

15

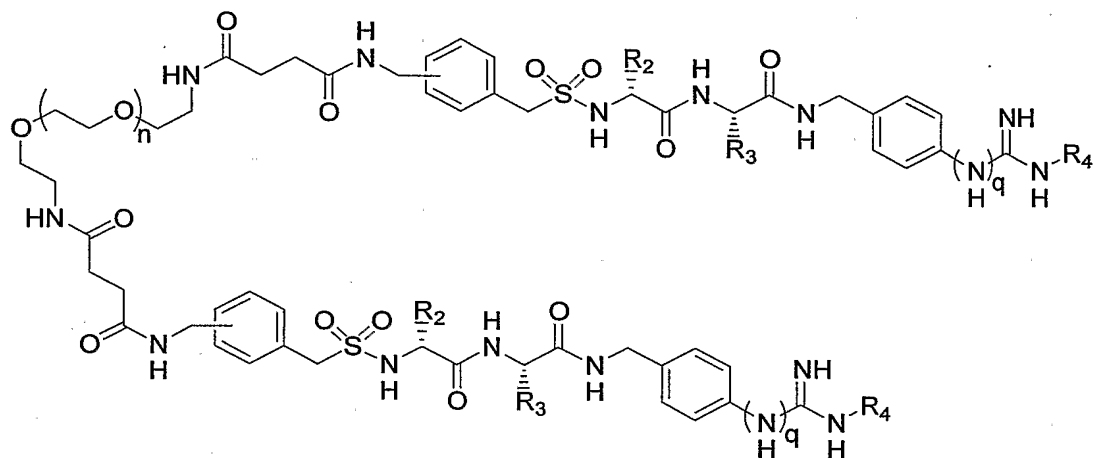
Weitere bevorzugte Ausführungsbeispiele für acylierte Amidino- und/oder Guanidinobenzylamine gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II weisen vorzugsweise die folgenden Strukturen auf:



oder

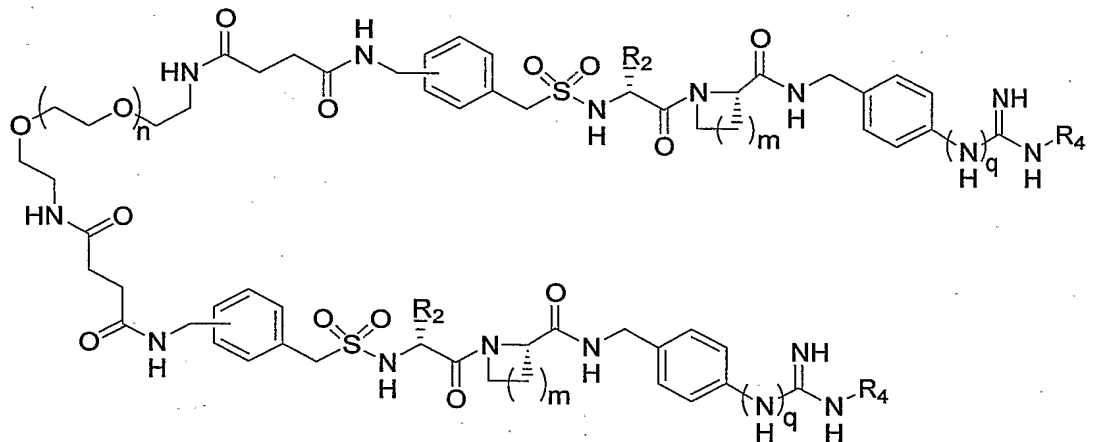


oder

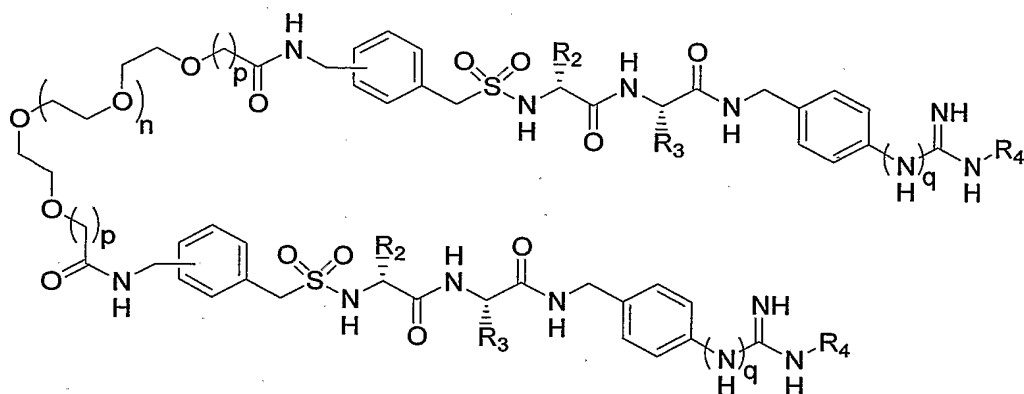


5

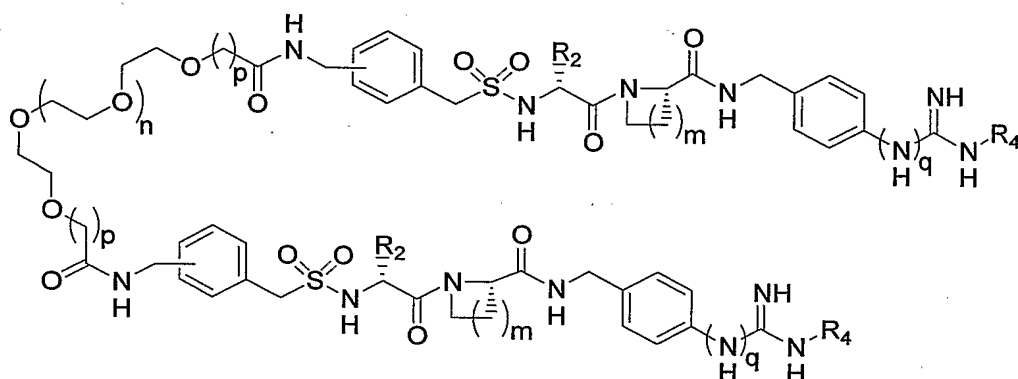
oder



oder



oder

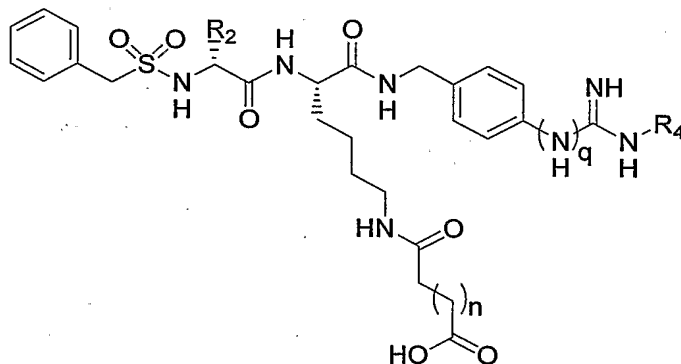


mit  $p = 0, 1, 2$  oder  $3$ ,  $q = 0$  oder  $1$ , insbesondere  $0$ ,  $n = 1$  bis  $1000$  und  $m = 1$  bis  $3$ , wobei  $R_2$  und  $R_3$  jeweils die oben genannten Bedeutungen besitzen. Durch das Fehlen einer zweiten funktionellen Gruppe können die aufgeführten Substanzen neben der kovalenten Kopplung an P4 nur nicht-kovalent an künstliche Oberflächen gekoppelt werden. Dies geschieht durch Interaktionen der Oligo- oder Polyalkylengruppe der Linkergruppe mit der künstlichen Oberfläche.

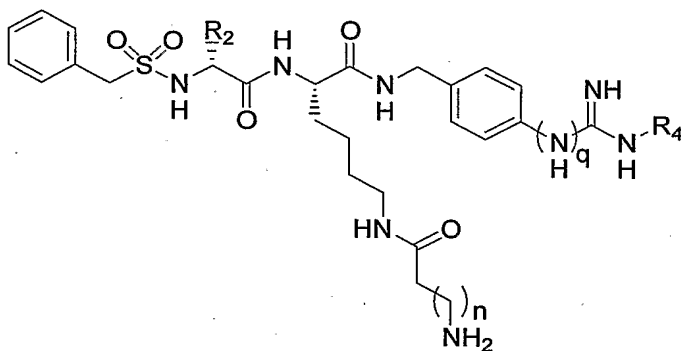
- Unter Interaktion der Linkergruppe, insbesondere einer Linkergruppe, die eine Oligo- oder Polyalkylengruppe enthält, mit einer künstlichen Oberfläche im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine nicht-kovalente Wechselwirkung dieser Linkergruppe mit der künstlichen Oberfläche, beispielsweise über Wasser-vermittelte Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophobe Wechselwirkungen oder van der Waalssche Wechselwirkungen zu verstehen.
- Die Substanzen, bei denen an eine Oligo- oder Polyalkylengruppe zwei Moleküle der Formel I gekoppelt sind, werden im Sinne der vorliegenden Erfindung als zweifach Inhibitor-funktionalisierte Oligo- oder Polyalkylenglycole bezeichnet.

Ein weiterer Vorteil von Oligo- und/oder Polyalkylenderivaten, die an einem Ende als reine Monomethylether vorliegen und so nicht zum kovalenten Koppeln geeignet sind, besteht in ihrer verlängerten Halbwertszeit in der zirkulation nach systemischer Gabe.

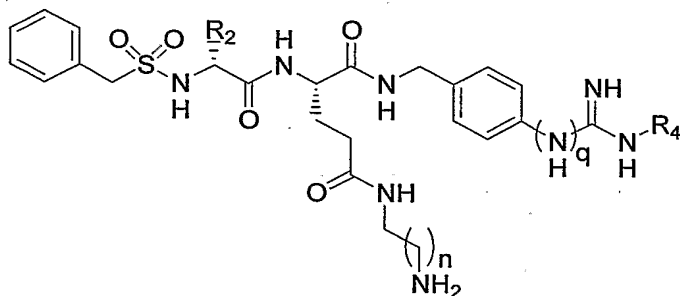
- 5 Bevorzugte Ausführungsbeispiele für acylierte Amidinobenzylamine gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P2 gemäß den allgemeinen Formeln III und IV weisen vorzugsweise eine der folgenden Strukturen auf:



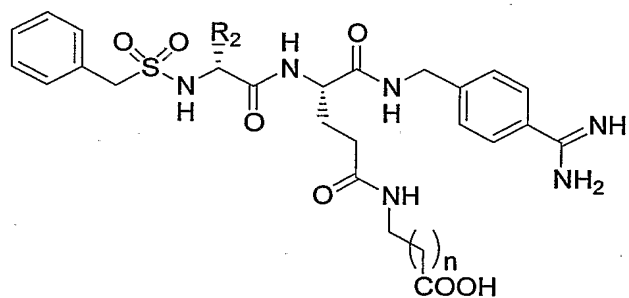
mit  $n = 0$  bis 5, bevorzugt 1 oder 2 oder



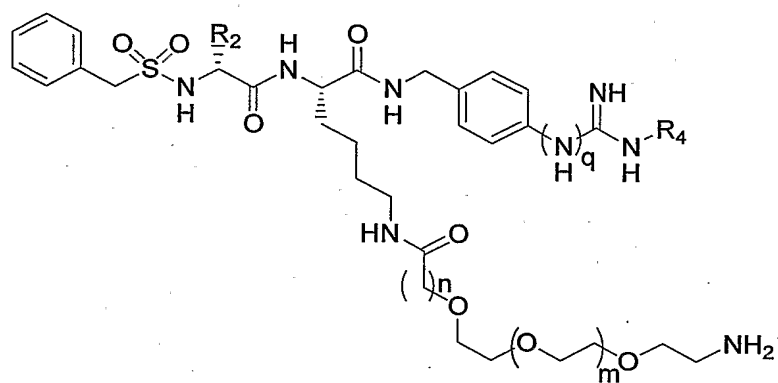
- 10 mit  $n = 0$  bis 11 oder



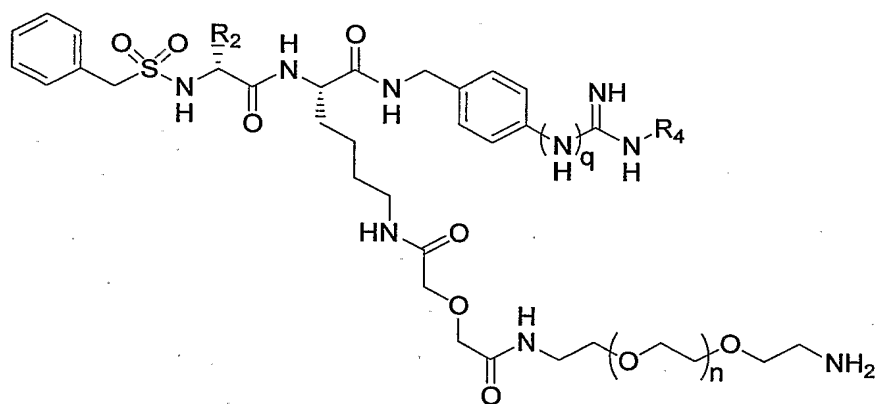
mit  $n = 1$  bis 6 oder

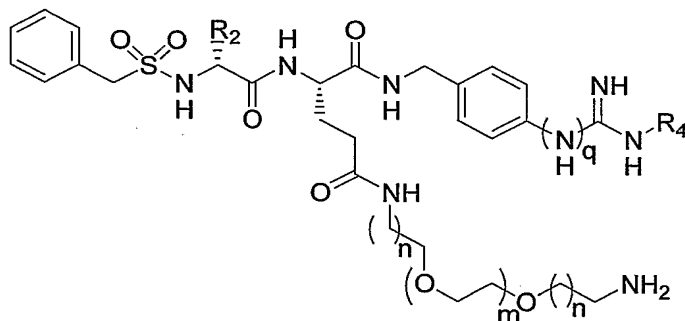


oder

mit  $n = 0$  bis 3 und  $m = 0$  bis 1000

5 oder

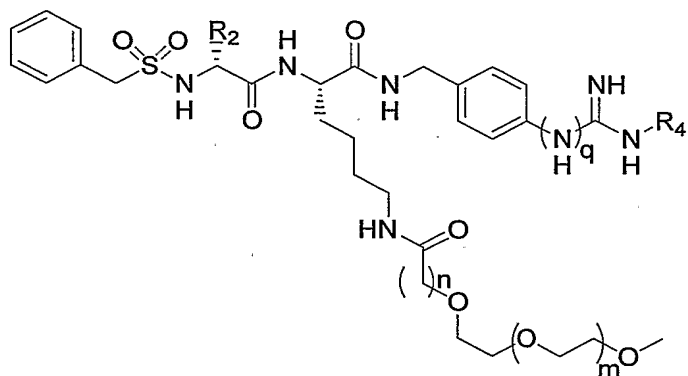
mit  $n = 1$  bis 1000 oder



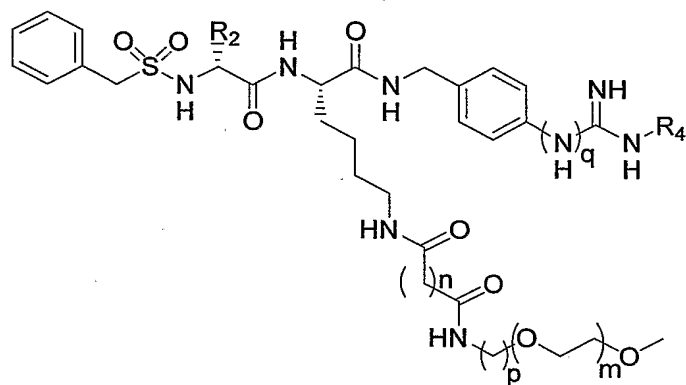
mit  $n = 1$  bis 3 und  $m=1$  bis 1000, wobei  $q$  jeweils gleich 0 oder 1, insbesondere 0 ist und  $\text{R}_2$  jeweils die oben genannten Bedeutungen besitzt. Durch das Vorhandensein einer zweiten funktionellen Gruppe können die aufgeführten Substanzen gleichzeitig mit der Koppelung an P2 kovalent an künstliche Oberflächen oder an ein zweites Molekül der allgemeinen Formel I gekoppelt werden.

Ein weiteres bevorzugtes Ausführungsbeispiel für ein acyliertes Amidino- und/oder Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P2 gemäß den allgemeinen Formeln III und IV weist vorzugsweise eine der folgenden Strukturen auf:

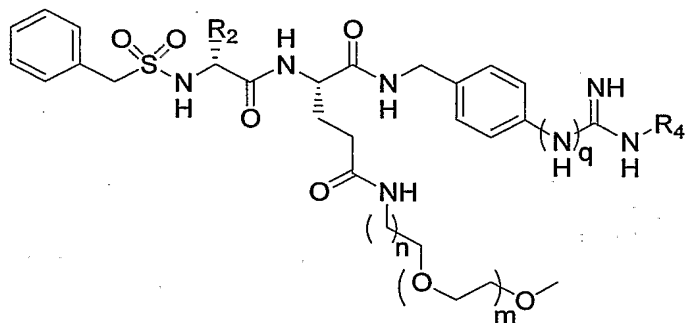




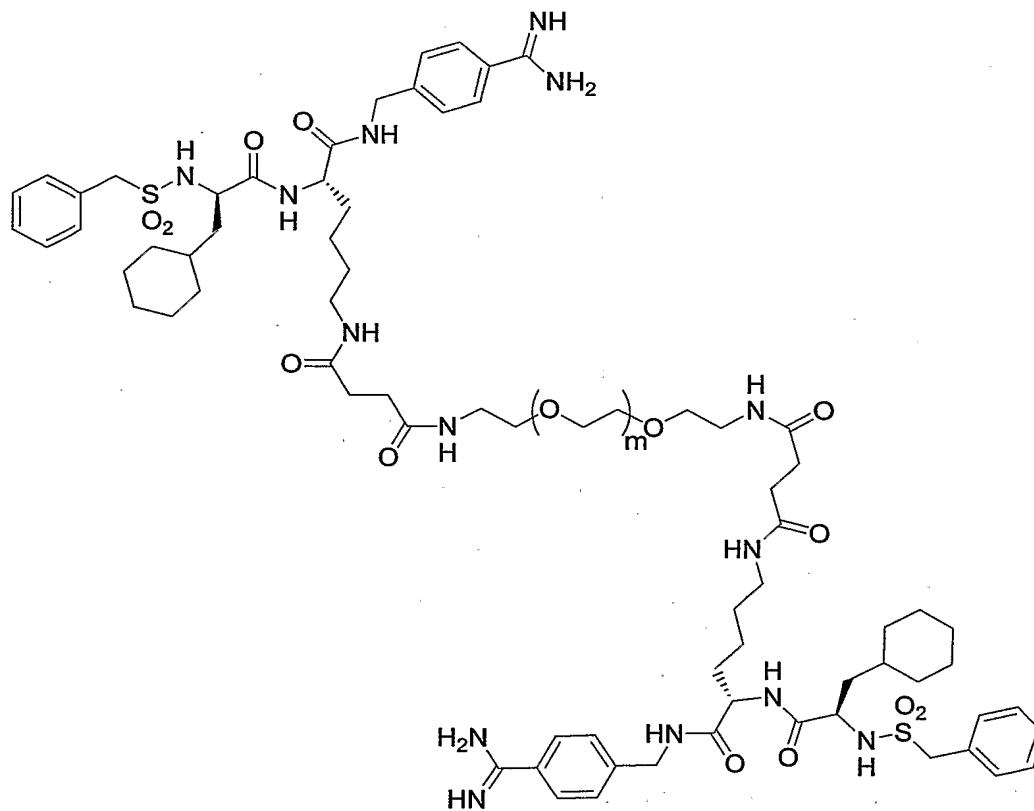
mit  $n = 0$  bis 4 und  $m = 10$  bis 1000 oder



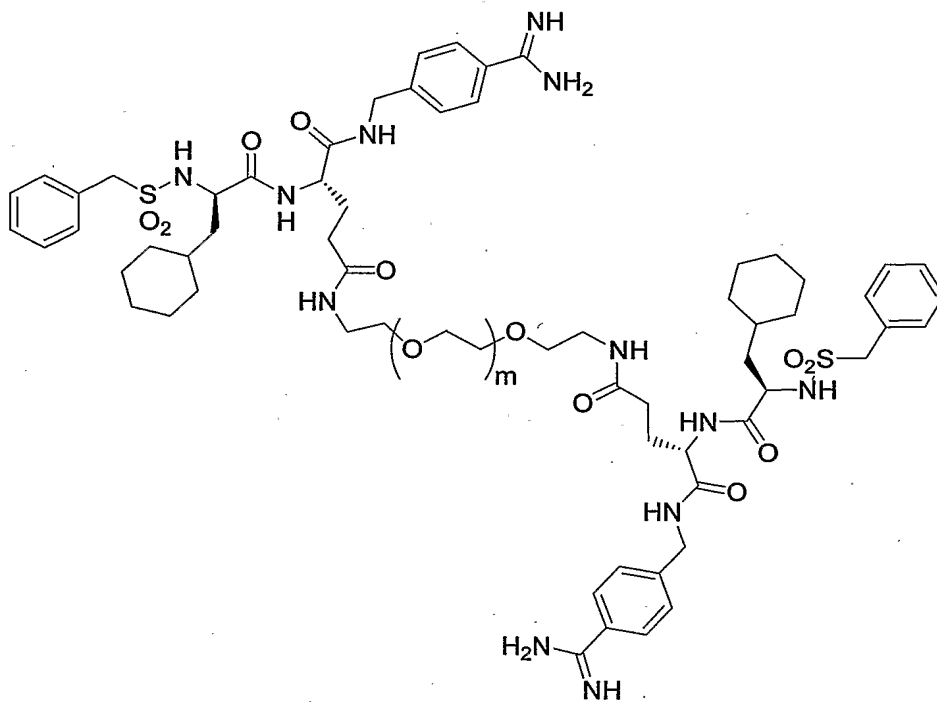
5 mit  $n = 1$  bis 4,  $p = 2$  bis 4 und  $m = 1$  bis 1000 oder



oder



oder

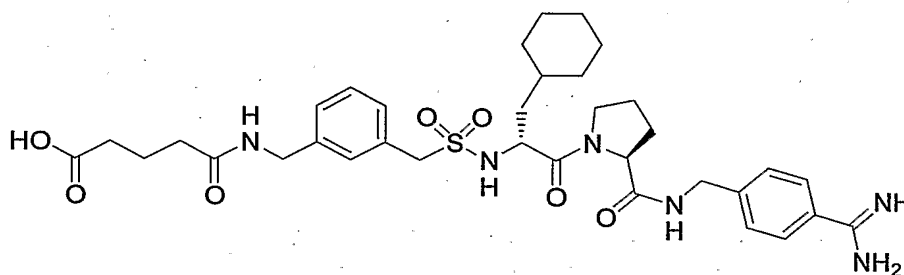


mit  $n=1$  bis 3 und  $m=10$  bis 1000, wobei  $q$  gleich 0 oder 1, insbesondere 0 ist und  $R_2$  jeweils die oben genannten Bedeutungen besitzt. Durch das Fehlen einer zweiten funktionellen Gruppe können die aufgeführten Substanzen neben der kovalenten Kopplung an P2 nur nicht-kovalent an künstliche Oberflächen gekoppelt werden. Dies geschieht durch Interaktionen der Oligo- oder Polyalkylengruppe der Linkergruppe mit der künstlichen Oberfläche, beispielsweise aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophoben Wechselwirkungen oder van der Waalsschen Wechselwirkungen. Die Substanzen, bei denen an eine Oligo- oder Polyalkylengruppe zwei Moleküle der Formel I gekoppelt sind, werden im Sinne der vorliegenden Erfindung als zweifach Inhibitor-funktionalisierte Oligo- oder Polyalkylenglycole bezeichnet.

Ein weiterer Vorteil dieser Oligo- und/oder Polyalkylenderivaten, die an einem Ende als reine Monomethylether vorliegen und so nicht zum kovalenten Koppeln geeignet sind, besteht wie bei den Derivaten, bei denen die Linkergruppe an P4 gekoppelt ist, in ihrer verlängerten Halbwertszeit in der Zirkulation nach systemischer Gabe.

Wenn die Kopplung an die künstliche Oberfläche über P2 erfolgt, ist der Substituent an P4 insbesondere H, ein Halogen, eine Aminogruppe, eine Hydroxygruppe oder eine lineare oder verzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen.

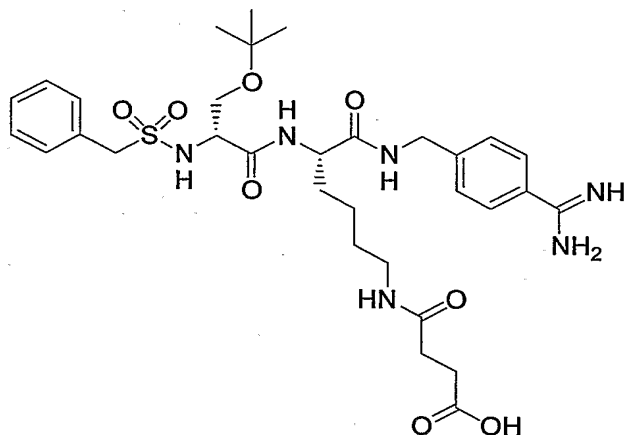
Eine besonders bevorzugte Ausführungsform eines acylierten Amidinobenzylamins gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II weist vorzugsweise die folgende Struktur auf:



wobei D-Cha in Position P3 insbesondere auch D-Phe oder D-Ser(tBu) und Glutaryl an P4 auch Succinyl sein kann. Diese Verbindung eignet sich zur gleichzeitigen kovalenten Kopplung an eine künstliche Oberfläche.

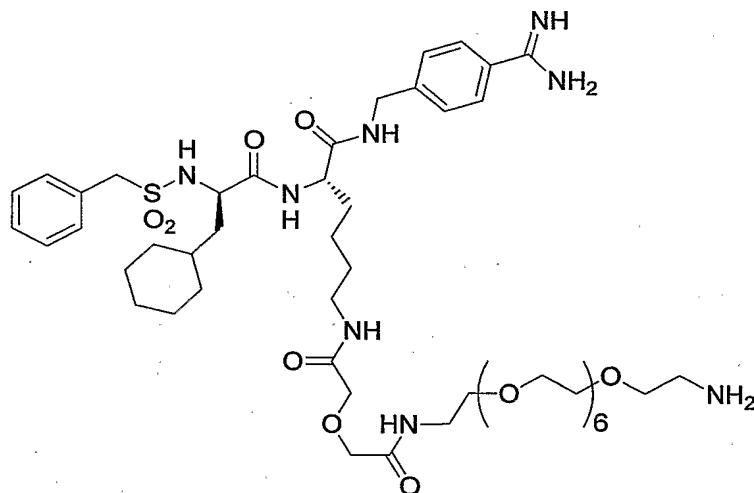
Eine weitere besonders bevorzugte Ausführungsform eines acylierten Amidinobenzylamins gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P2 gemäß den allgemeinen Formeln III und IV weist vorzugsweise die folgende Struktur auf:

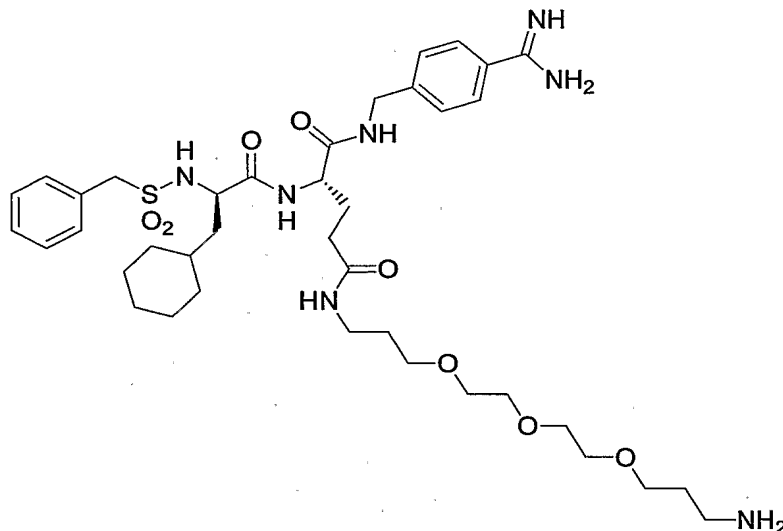
19



wobei D-Ser(tBu) in Position P3 insbesondere auch D-Cha oder D-Phe und Succinyl an P2 auch Glutaryl sein kann. Diese Verbindung eignet sich zur gleichzeitigen kovalenten Kopplung an eine künstliche Oberfläche.

- 5 Eine weitere besonders bevorzugte Ausführungsform eines acylierten Amidinobenzylamins gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P2 gemäß den allgemeinen Formeln III und IV weist vorzugsweise eine der folgenden Strukturen auf:





wobei D-Cha in Position P3 insbesondere auch D-Phe oder D-Ser(tBu) sein kann. Diese Verbindungen eignen sich zur gleichzeitigen kovalenten Kopplung an eine künstliche Oberfläche oder zur kovalenten Kopplung an ein zweites Molekül der allgemeinen Formel I.

5 Weitere mögliche Ausführungsbeispiele für acylierte Aminobenzylamine, die PK mit hoher Aktivität und Spezifität hemmen, sind Verbindungen gemäß Formel I, wobei P4 einen Rest R trägt, P3 D-Ser, D-Ser(tBu), D-Phe oder D-Cha und P2 eine natürliche oder unnatürliche Aminosäure Aaa bedeutet, wobei R gleich H-, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-COOH, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-COOMe, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-AMe, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-Glutaryl-AMe oder 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-CN ist und Aaa gleich Gly, Ala, Pro, Asp, Glu, Gln, hGlu, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser, Ser(Bzl), hSer, hSer(Bzl), Phe oder hPhe ist.

Besonders bevorzugt sind dabei die acylierten Aminobenzylamine wobei bei P3 gleich D-Ser Aaa vorzugsweise Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Ser(Bzl), hSer, Phe oder hPhe, insbesondere Lys(Z) ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Ala oder Ser R gleich HOOC- ist; 15 oder bei P3 gleich D-Ser(tBu) Aaa gleich Pro, Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser(Bzl), hSer(Bzl), Phe oder hPhe, insbesondere Pro, Gln, Lys, Lys(Z), hSer(Bzl), Phe oder hPhe ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Gly oder Ala R gleich HOOC- ist oder bei Aaa gleich Pro R gleich CN- ist;

20 oder bei P3 gleich D-Cha Aaa gleich Lys oder Glu ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Pro R gleich Glutaryl-AMe ist, insbesondere bei Aaa gleich  $\text{-NH-CH-[CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-[O-(CH}_2\text{)}_2\text{]}_3\text{-CH}_2\text{-NH}_2\text{]-CO-}$  R gleich H ist.

Die erfindungsgemäßen Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinbenzylamins liegen in der Regel in Form eines Salzes, insbesondere einer Mineralsäure beispielsweise Schwefelsäure oder Salzsäure oder einer geeigneten organischen Säure beispielsweise Essigsäure, Ameisensäure, Methylsulfonsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure oder Trifluoressigsäure, insbesondere als Hydrochlorid, Sulfat oder Acetat vor.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Umsetzung einer  $H_2N$ -Gruppe einer an das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinbenzylamin gekoppelten Linkergruppe mit einem Dicarbonsäureanhydrid, vorzugsweise dem Anhydrid der Bernsteinsäure oder der Glutarsäure unter Bildung einer  $HOOC$ -Gruppe oder die Umsetzung einer  $HOOC$ -Gruppe einer an das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinbenzylamin gekoppelten Linkergruppe mit einem Diamin unter Bildung einer  $H_2N$ -Gruppe. Diese Reaktionen erfolgen nach dem Fachmann bekannten Standardverfahren.

Die durch diese Reaktionen ermöglichte Umwandlung einer  $H_2N$ -Gruppe in eine  $HOOC$ -Gruppe und einer  $HOOC$ -Gruppe in eine  $H_2N$ -Gruppe erweitert die Kopplungsmöglichkeiten der Verbindungen der allgemeinen Formel I an künstliche Oberflächen oder ein zweites Molekül der allgemeinen Formel I.

In einer besonders bevorzugten Anwendungsform der vorliegenden Erfindung kann die kovalent an P4 oder P2 gekoppelte Linkergruppe bei Vorhandensein einer zweiten funktionellen Gruppe, insbesondere einer substituierten oder unsubstituierten Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe, gleichzeitig kovalent an künstliche Oberflächen oder sofern es sich bei der Linkergruppe um ein Oligo- oder Polyalkylenglycol handelt kovalent an ein zweites Molekül der allgemeinen Formel I gekoppelt sein, unter Bildung eines zweifach Inhibitor-funktionalisierten Oligo- oder Polyalkylenglycols bezeichnet.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht die künstliche Oberfläche, an die die Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinbenzylamins gekoppelt werden können, aus Cellulose-Diacetat, Cellulose-Triacetat, Poly(ethersulfon), Poly(arylethersulfon), regenerierter Cellulose, Cuprophan, Hemophan, Poly(sulfon), Poly(acrylnitril), Poly(vinylalkohol), Poly(carbonat), Poly(amid), Poly(methylmethacrylat), Poly(ethylen-co-vinylalkohol) oder einem anderen in Geräten wie Dialysatoren, Oxygenatoren, Kathetern, Membranen und/oder den zu den Geräten gehörenden Schlauchsystemen und/oder Luftfallen für die Oberflächen, die mit Blut in Kontakt kommen, verwendeten Material, wobei das Oberflächenmaterial für die kovalente

Kopplung des Moleküls der allgemeinen Formel I über die an P4 oder P2 gekoppelte Linkergruppe gegebenenfalls mit funktionellen Gruppen, z.B. Aminogruppen, Aminoalkylgruppen, Carboxylgruppen, Carboxyalkylgruppen, Mercaptogruppen, Mercaptoalkylgruppen, Hydroxylgruppen, Hydroxyalkylgruppen, wobei der Alkylrest 1-10, insbesondere 1-6 C-Atome aufweist, modifiziert ist.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins an künstliche Oberflächen von z.B. Geräten wie Dialysatoren, Oxygenatoren, Kathetern und/oder Membranen gekoppelt, um die Blutgerinnung an den Oberflächen dieser Geräte zu verhindern.

Die Kopplung der Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins erfolgt vorzugsweise durch kovalente oder nicht-kovalente Beschichtung der künstlichen Oberfläche(n) über eine der oben beschriebenen Linkergruppen, die an einen Substituenten an P4 und/oder gegebenenfalls direkt an die Seitenkette von P2 der allgemeinen Formel I gebunden ist.

Ein Gerät im Sinne der vorliegenden Erfindung ist jede Vorrichtung, die mit Blut und dessen Bestandteilen in Kontakt kommt.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung eines oder mehrerer der erfindungsgemäßen Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanzen und/oder Antithrombotikum zur Verhinderung und/oder Behandlung von Herzinfarkt, Hirnschlag, Embolien, tiefen Beinvenenthrombosen z.B. nach Hüftgelenkoperationen und/oder Kniegelenkersatz, instabiler Angina pectoris, Komplikationen infolge von Angioplastie, insbesondere perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA).

Unter Antikoagulanzen im Sinne der vorliegenden Erfindung ist jede Substanz zu verstehen, die die Blutgerinnung hemmt. Unter Antithrombotikum im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Substanzen zum Einsatz bei der Thromboseprophylaxe zu verstehen. Unter Angioplastie im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine Aufdehnung von Gefäßen zu verstehen, insbesondere mit Hilfe von Kathetern wie beispielsweise Ballonkathetern.

Eine weitere Ausführungsform ist die Verwendung eines oder mehrerer der oben beschriebenen acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamine zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanzen und/oder Antithrombotikum zur Verhinderung und Therapie von disseminierter intravaskulärer Gerinnung, septischem Schock, Al-

lergien, dem Postgastrektomiesyndrom, Arthritis und ARDS (adult respiratory distress syndrome).

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins zur Herstellung eines Arzneimittels zur Inhibition von Plasmakallikrein und/oder Faktor XIa und/oder Faktor XIIa in parenteraler Anwendungsform, insbesondere in intraarterieller, intravenöser, intramuskulärer oder subkutaner Form, in enteraler Anwendungsform, insbesondere zur oralen oder rektalen Anwendung oder in topischer Anwendungsform, insbesondere als Dermatikum verwendet. Dabei sind intravenöse oder subkutane Anwendungsformen bevorzugt. Beispielsweise bevorzugt ist die Inhibition von Plasmakallikrein.

Die erfindungsgemäßen Derivate des acylierten 4-Amidino- bzw. 4-Guanidinobenzylamins können insbesondere zur Herstellung eines Arzneimittels zur Inhibition von Plasmakallikrein in Form einer Tablette, eines Dragées, einer Kapsel, eines Pellets, Suppositoriums, einer Lösung, insbesondere einer Injektions- oder Infusionslösung, von Augen-, Nasen und Ohrentropfen, eines Safts, einer Kapsel, einer Emulsion oder Suspension, eines Globuli, Styli, Aerosols, Puders, einer Paste, Creme oder Salbe verwendet werden.

Neben dem erfindungsgemäßen Inhibitor kann das Arzneimittel weitere pharmazeutisch geeignete Hilfs- und/oder Zusatzstoffe enthalten. Geeignete Hilfs- und/oder Zusatzstoffe, die z.B. der Stabilisierung und/oder Konservierung des Arzneimittels dienen, sind dem Fachmann allgemein geläufig (z.B. Sucker H. et al., (1991) Pharmazeutische Technologie, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart). Hierzu zählen beispielsweise physiologische Kochsalzlösungen, Ringer-Dextrose, Ringer-Laktat, entmineralisiertes Wasser, Stabilisatoren, Antioxidantien, Komplexbildner, antimikrobielle Verbindungen, Proteinaseinhibitoren und/oder inerte Gase.

Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von acyliertem Amidinobenzylamin der allgemeinen Formel V oder VI mit  $R_4$  insbesondere gleich HO- und  $R_1$  und  $R_3$  keine Oligo- oder Polyalkylengruppe zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanz und/oder Antithrombotikum bei oben aufgeführten Indikationen, wobei der Wirkstoff in Form eines Prodrugs zur oralen Gabe vorliegt.

Ein Prodrug im Sinne der vorliegenden Erfindung ist ein acyliertes Amidino- oder Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel I, das als pharmazeutisch inaktives Derivat der entsprechenden pharmazeutisch wirksamen Substanz vorliegt und nach oraler Gabe



spontan oder enzymatisch biotransformiert wird unter Freisetzung der pharmazeutisch wirksamen Substanz.

Neben der bevorzugten Anwendung der beschriebenen acylierten Amidino- oder Guanidinobenzylamine zur Inhibierung von Plasmakallikrein können diese auch zur Inhibierung weiterer trypsinartiger Serinproteasen wie beispielsweise Thrombin, Faktor XIIa, Faktor Faktor XIa, Xa, Faktor IXa, Faktor VIIa, Urokinase, Trypsinase und Plasmin sowie trypsinartiger Serinproteasen des Komplementsystems verwendet werden.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel P4—P3—P2—P1 (I), wobei die Substanz über eine der oben beschriebenen Linkergruppen an P4 und/oder an P2 kovalent oder nicht-kovalent an eine künstliche Oberfläche gebunden ist. Dabei ist die Substanz vorzugsweise über eine Amid- oder Sulfonamidbindung, eine Disulfidbrücke oder die Alkylierung einer Mercaptogruppe, insbesondere über eine Amidbindung kovalent an eine künstliche Oberfläche gebunden. Eine nicht-kovalente Bindung der Substanz an eine künstliche Oberfläche erfolgt vorzugsweise über Interaktionen einer Oligo- oder Polyalkylenglykolgruppe, insbesondere einer Oligo- oder Polyethylenglykolgruppe, mit einer künstlichen Oberfläche.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine künstliche Oberfläche, wobei die Oberfläche mit einem erfindungsgemäßen acylierten 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin kovalent oder nicht-kovalent beschichtet ist. Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Gerät, beispielsweise ein Dialysator, Oxygenerator, Katheter oder eine Membran mit den zugehörigen Schlauchsystemen und/oder Luftfallen, das eine mit einem erfindungsgemäßen acylierten 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin kovalent oder nicht-kovalent beschichtete künstliche Oberfläche enthält.

Die Synthese der erfindungsgemäßen Derivate des acylierten 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamins erfolgt nach dem Fachmann bekannten Methoden. Beispielsweise wird aus dem kommerziell erhältlichen 4-Cyanobenzylamin (Showa Denko, Japan) das Boc-geschützte 4-(Acetyloxamidino)Benzylamin nach dem Fachmann bekannten Verfahren gewonnen. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass man 4-Cyanobenzylamin direkt an die Boc- oder Z-geschützte P2-Aminosäure koppelt und auf dieser Stufe die Cyano-Gruppe in das Acetyloxamidin überführt. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe er-

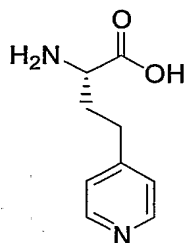
folgt die Ankopplung der weiteren Aminosäuren mittels Standardkopplungsmethoden mit Boc als N-terminaler Schutzgruppe. Die P3-Aminosäure kann auch direkt als N-aryl- bzw. N-aralkyl-sulfonyl-geschützte Aminosäure gekoppelt werden. Die meisten Zwischenprodukte kristallisieren gut und lassen sich damit einfach reinigen. Die Endreinigung der Inhibi-  
5 bitoren erfolgt auf der letzten Stufe vorzugsweise über präparative, reversed-phase HPLC.

Die Erfindung soll nachstehend anhand der angefügten Ausführungsbeispiele und Tabellen näher erläutert werden, ohne sie zu beschränken.

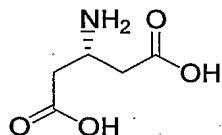
Verwendete Abkürzungen

	Aaa	Aminosäure
	Ac	Acetyl
5	AcOH	Essigsäure
	ACN	Acetonitril
	Amba	Amidinobenzylamin
	AMe	Aminomethyl
	ARDS	adult respiratory distress syndrome
10	Boc	tert.-Butyloxycarbonyl
	Bzl	Benzyl
	Bzls	Benzylsulfonyl
	Can	Canavanin
	Cha	Cyclohexylalanin
15	CKIBE	Chlorkohlensäureisobutylester
	CNBzls	Cyanobenzylsulfonyl
	Dab	$\alpha,\gamma$ -Diaminobuttersäure
	Dap	$\alpha,\beta$ -Diaminopropionsäure
	Dap(Z)	Benzyloxycarbonyl- $\alpha,\gamma$ -Diaminobuttersäure
20	DCM	Dichlormethan
	DIEA	Diisopropylethylamin
	DMF	N,N-Dimethylformamid
	D-Ser	D-Serin, andere Aminosäuren entsprechend
	D-Ser(tBu)	D-(tert.-Butylserin)
25	F XIa	Faktor XIa
	F XIIa	Faktor XIIa
	Glut	Glutaryl
	GuMe	Guanidinomethylen

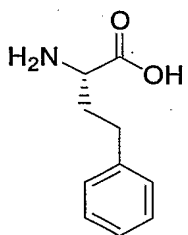
hAla(4-Pyr) Homo-4-Pyridyl-Alanin



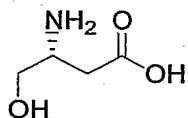
hGlu beta-Homoglutaminsäure



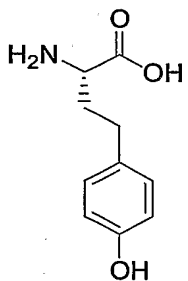
5 hPhe Homophenylalanin



hSer beta-Homoserin



hTyr Homotyrosin



10

n.b. nicht bestimmt

PEG Polyethylenglykol

Phe Phenylalanin

PK Plasmakallikrein

15 Pro-MMP 3 Pro-Matrixmetalloprotease 3

PyBop Benzotriazol-1-yl-N-oxy-tris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat

RT Raumtemperatur

	Ser(Bzl)	Serin(Benzyl)
	Suc	Succinyl
	TFA	Trifluoressigsäure
	Tfa	Trifluoracetyl
5	Z	Benzyloxycarbonyl

Analytische Methoden:

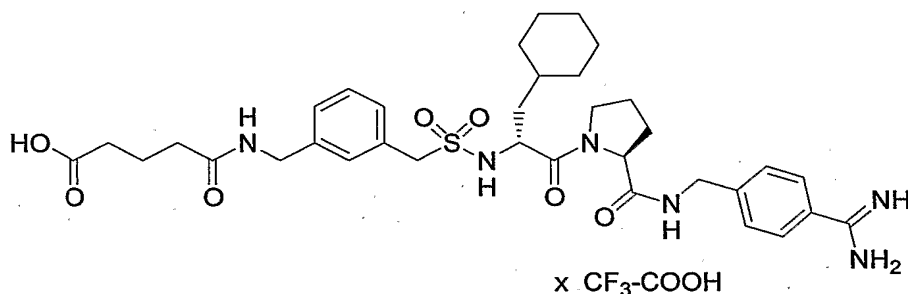
Analytische HPLC: Shimadzu LC-10A System, Säule: Phenomenex Luna C<sub>18</sub>, 5 µm (250 x 4 mm), Lösungsmittel A: 0,1 % TFA in Wasser; B: 0,1 % B in ACN, Gradient: 10 % B bis 70 % B in 60 min, 1 ml/min Flussrate, Detektion bei 220 nm.

- 5 Präparative HPLC: Shimadzu LC-8A System, Säule: Phenomenex Luna C<sub>18</sub>, 5 µm (250 x 30 mm), Lösungsmittel A: 0,1 % TFA in Wasser; B: 0,1 % B in ACN, Gradient: 10 % B bis 55 % B in 120 min, 10 ml/min Flussrate, Detektion bei 220 nm.

Massenspektroskopie: Die Massenspektren wurden entweder auf einem Kompact Probe der Firma Kratos (Manchester, UK) mit einem Flugzeitmessungsdetektor und α-Cyano-  
 10 Hydroxyzimtsäure als Matrix gemessen oder mit einem ESI-MS LCQ der Firma Finnigan (Bremen, Deutschland) bestimmt.

Ausführungsbeispiel 1:

- 15 Synthese von 3(Glutaryl-Amidomethyl)Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-4-Amidinobenzylamid  
 x TFA



## 1a) 3-(Cyano)Benzylsulfonsäure Natrium-Salz

- 30 g (153 mmol) 3-Cyanobenzylbromid (Aldrich) wurden in 150 ml Wasser suspendiert und nach Zugabe von 21,2 g (168,3 mmol) Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 8 h unter Rückfluss gekocht. Der Ansatz wurde heiß filtriert und das Wasser im Vakuum etwas eingengt. Der Ansatz wurde  
 20 zur Kristallisation über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, danach wurden die Kristalle abgesaugt und nochmals aus Wasser umkristallisiert. Die Kristalle wurden abgesaugt und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 17,1 g (78 mmol), HPLC: 18,2 % B

- 25 1b) 3-(Cyano)Benzylsulfonylchlorid

5 g (22,83 mmol) 3-Cyano-Benzylsulfonsäure Natrium-Salz wurden mit ca. 20 ml Phosphorylchlorid angefeuchtet und mit 5,2 g (25,11 mmol)  $\text{PCl}_5$  versetzt und 15 min unter Eiskühlung gerührt. Anschließend wurde der Ansatz 4 h auf 80 °C erwärmt. Danach wurde der Ansatz auf Eis gegossen und 30 min kräftig gerührt, das Produkt schied sich als weißer Feststoff auf dem Eis ab. Nachdem das Eis teilweise aufgetaut war, wurde der Ansatz durch eine Fritte filtriert und das verbleibende Produkt-Eis-Gemisch mehrmals mit Wasser gewaschen. Die verbleibenden Kristalle wurden im Vakuum getrocknet und direkt für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 3,4 g (15,8 mmol)

1c) 3-(Cyano)Benzylsulfonyl-D-Cha-OH

3,775 g (22 mmol) H-D-Cha-OH wurden in 100 ml trockenem DCM suspendiert und mit 6,316 ml (50 mmol) Trimethylsilylchlorid und 8,7 ml (50 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 1 h unter Rückfluss gekocht und im Eisbad abgekühlt. Anschließend wurden 5 g (23,18 mmol) 3-Cyano-Benzylsulfonylchlorid und 5 ml (28,75 mmol) DIEA innerhalb von 30 min zugesetzt. Der Ansatz wurde weitere 30 min unter Eiskühlung und anschließend für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser (mit 1 N NaOH auf pH 8,5-9 gebracht) gelöst und 2 x mit Essigester extrahiert. Die Essigesterphase wurde anschließend nochmals mit basischem Wasser (pH 9, NaOH) extrahiert. Die vereinten basischen Wasserphasen wurden anschließend mit konzentrierter HCl-Lösung angesäuert (pH ca. 3) und 3 x mit Essigester extrahiert. Die vereinte Essigesterphase wurde jeweils 3 x mit 5 %  $\text{KHSO}_4$ -Lösung und NaCl-gesättigter Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 6,99 g Öl, das im Kühlschrank langsam kristallisiert, HPLC: 53,9 % B

1d) H-Pro-4(Acetyloxamidino)Benzylamid x HBr

5 g Z-Pro-4(Acetyloxamidino)Benzylamid (synthetisiert wie beschrieben in WO 02/059065) wurden mit 75 ml HBr-Lösung (33 %ig in Essigsäure) bei Raumtemperatur versetzt. Der Ansatz wurde eine Stunde stehen gelassen und gelegentlich umgeschüttelt.

Danach wurde der Ansatz mit Ether versetzt und das ausgefallene Produkt abgesaugt und auf der Fritte mehrmals mit Ether gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,3 g (11,16 mmol), HPLC 18,3 % B

5 1e) 3-(Cyano)Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-4(Acetyloxamidino)Benzylamid

2,5 g (7,13 mmol) 3-Cyano-Benzylsulfonyl-D-Cha-OH und 2,74 g (7,13 g) H-Pro-4-(Acetyl-oxamidino)Benzylamid x HBr wurden in 50 ml DMF gelöst. Unter Eiskühlung wurden 3,71 g (7,13 mmol) PyBop und 3,7 ml DIEA hinzugefügt. Der Ansatz wurde 30 min unter Eiskühlung und anschließend 3 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im  
10 Vakuum entfernt, der Ansatz in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen. Die Essigesterphase wurde mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

15 Ausbeute: 3,3 g Öl, HPLC bei 53,77 % B

MS: berechnet 578,27 (monoisotopic), gefunden 579,4 [M+H]<sup>+</sup>

1f) 3-(Aminomethyl)Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-4(Amidino)Benzylamid x  
2 HCl

20 1 g Rohprodukt an 3-Cyano-Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-4-(Acetyloxamidino) Benzylamid wurde in 500 ml Essigsäure gelöst und mit 150 ml 1 N HCl versetzt. Danach wurden 200 mg Katalysator (10 % Palladium auf Aktivkohle) hinzugefügt und der Ansatz bei 50 °C 15 h mit Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde mit Toluol versetzt und das Lösungsmittel im  
25 Vakuum entfernt, der Vorgang wurde noch 2 x wiederholt. Der Rückstand wurde in wenig Methanol gelöst und das Produkt durch Zugabe von Ether gefällt und abgesaugt. Das Produkt wurde mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 0,8 g, HPLC bei 34,28 % B

30 MS: berechnet 582,30 (monoisotopic), gefunden 583,5 [M+H]<sup>+</sup>



1 g) 3-(Glutarylamidomethyl)Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-4(Amidino)Benzylamid x TFA  
 200 mg (ca. 0,3 mmol) Rohprodukt an 3-(Aminomethyl)Benzylsulfonyl-D-Cha-Pro-  
 4(Amidino)Benzylamid x 2 HCl wurden mit 38 mg (0,33 mmol) Glutarsäureanhydrid und  
 5 115 µl (0,66 mmol) DIEA in 5 ml DMF unter Eiskühlung versetzt. Der Ansatz wurde 30  
 min unter Eiskühlung und weitere 3 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. V. ent-  
 fernt und das Rohprodukt mittels präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

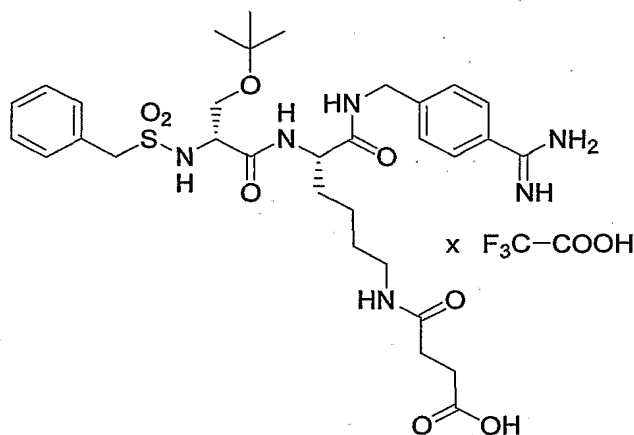
Ausbeute: 125 mg, HPLC bei 40,1 % B

MS: berechnet 696,33 (monoisotopic), gefunden 697,8 [M+H]<sup>+</sup>

10

### Ausführungsbeispiel 2:

Synthese von Benzylsulfonyl-D-Ser(tBu)-Lys(Succinyl)-4-Amba x TFA



#### 2a) Boc-Lys(Tfa)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

15 5 g (14,61 mmol) Boc-Lys(Tfa)-OH wurden in 100 ml THF gelöst und bei -15 °C mit  
 1,767 ml (16,10 mmol) NMM und 1,899 ml (14,61 mmol) CKIBE versetzt. Der Ansatz  
 wurde 10 min bei -15°C gerührt, dann wurden 3,74 g (15,33 mmol)  
 4-(Acetyloxamidino)Benzylamin x HCl (hergestellt wie in WO 01/96286 A2 beschrieben)  
 und nochmals 1,767 ml (16,10 mmol) NMM hinzugefügt. Der Ansatz wurde eine weitere  
 20 Stunde bei -15 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde  
 im Vakuum entfernt, der Ansatz in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 %  
 KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-

gesättigtem Wasser gewaschen und mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt aus Essigester kristallisiert.

Ausbeute: 6,82 g (12,83 mmol) weiße Kristalle, HPLC: 43,87 % B

5 2b) H-Lys(Tfa)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl

5 g (9,41 mmol) Boc-Lys(Tfa)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden in wenig Eisessig angelöst und anschließend mit 100 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Nach 45 min Stehen bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel teilweise eingeeengt und das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und nochmals mit Diethylether gewaschen.

10 Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,65 g (10,78 mmol) weißer Feststoff, HPLC: 25,52 % B

2c) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

1,93 g (6,107 mmol) Bzls-D-Ser(tBu)-OH und 3 g (6,412 mmol) H-Lys(Tfa)-  
15 4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl wurden in 30 ml Acetonitril gelöst und bei 0 °C mit 3,337 g (6,412 mmol) PyBop und 3,187 ml (18,32 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 30 min bei 0 °C und weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 %  $\text{KHSO}_4$ , NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und nochmals mit  
20 NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und anschließend mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es verblieb ein leicht gelbes, amorphes Rohprodukt, das ohne weitere Reinigung direkt für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt wurde.  
Ausbeute: 5,88 g (Rohprodukt), HPLC: 52,93 % B

25 2d) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat

5,88 g (Rohprodukt) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(Acetyloxamidino) Benzylamid wurden in 150 ml 90 % Essigsäure gelöst, dazu wurden 500 mg Katalysator (10 % Pd/C) gegeben. Der Ansatz wurde 6 h bei Raumtemperatur und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel teilweise eingeeengt und  
30 das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und nochmals mit Diethylether gewaschen. Der weiße, kristalline Niederschlag wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,36 g (5,962 mmol), HPLC: 43,50 % B.

## 2e) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA

0,2 g Rohprodukt an Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat wurden unter Eiskühlung mit 5 ml 1M wässriger Piperidinlösung versetzt und 3 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde danach im Vakuum eingeeengt und der verbleibende Rückstand mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

Ausbeute: 72 mg, HPLC: 30,9 % B

MS: berechnet 574,29 (monoisotopic), gefunden 575,7  $[M+H]^+$

## 2f) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Succinyl)-4-(Amidino)Benzylamid x TFA

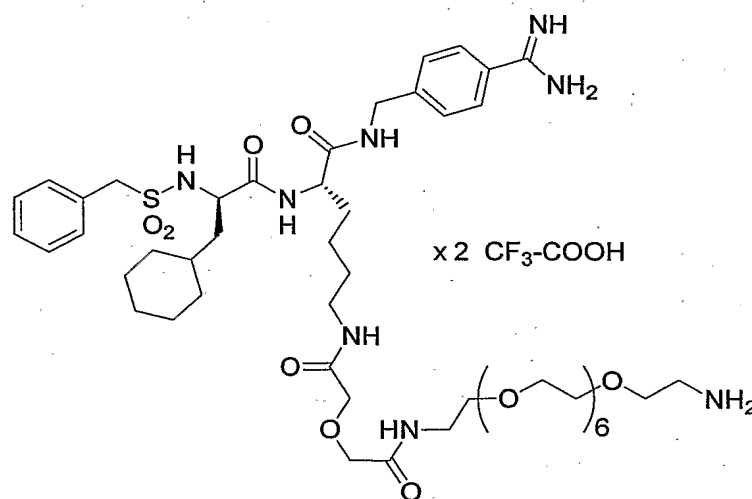
60 mg (0,075 mmol) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA wurden unter Eiskühlung mit 2 ml DMF, 7,8 mg (0,078 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 27,1  $\mu$ l (0,156 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde noch 30 min unter Eiskühlung und anschließend 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

Ausbeute: 41 mg, HPLC: 35,8 % B

MS: berechnet 674,31 (monoisotopic), gefunden 675,9  $[M+H]^+$

Ausführungsbeispiel 3:

Synthese von Benzylsulfonyl-D-Cha-Lys(CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Hexaethylenglycol-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)-4-Amba x 2 TFA



## 3a) Benzylsulfonyl-D-Cha-OH

6 g (35,1 mmol) H-D-Cha-OH wurden in 120 ml trockenem DCM suspendiert, mit 9,75 ml (77,2 mmol) Trimethylsilylchlorid und 13,4 ml (77,2 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 1 h unter Rückfluss gekocht und im Eisbad abgekühlt. Anschließend wurden 7,02 g (36,85 mmol) Benzylsulfonylchlorid und 7,83 ml (45 mmol) DIEA innerhalb von 30 min zugesetzt. Der Ansatz wurde weitere 30 min unter Eiskühlung und danach für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser (mit 1 N NaOH auf pH 8,5-9 gebracht) gelöst und 2 x mit Essigester extrahiert. Die basische Wasserphase wurde anschließend mit konzentrierter HCl-Lösung angesäuert (pH ca. 3) und 3 x mit Essigester extrahiert. Die vereinte Essigesterphase wurde jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>-Lösung und NaCl-gesättigter Lösung gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 9,2 g Öl (kristallisiert langsam im Kühlschrank), HPLC: 55,8 % B

### 3b) Boc-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

4,41 g (11,59 mmol) Boc-Lys(Z)-OH wurden in 125 ml DMF gelöst und bei -15 °C mit 1,275 ml (11,59 mmol) NMM und 1,506 ml (11,59 mmol) CKIBE versetzt. Der Ansatz wurde 10 min bei -15 °C gerührt, dann wurden 2,97 g (12,17 mmol) 4-(Acetyloxamidino)Benzylamin x HCl (hergestellt wie in WO 01/96286 A2 beschrieben) und nochmals 1,34 ml (12,17 mmol) NMM hinzugefügt. Der Ansatz wurde eine weitere Stunde bei -15 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Ansatz in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, die verbleibende amorphe Substanz wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 5,2 g, HPLC: 51,12 % B

### 3c) H-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl

5 g Boc-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden mit 100 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Nach 45 min Stehen bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel teilweise eingengt und das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und nochmals mit Diethylether gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,2 g (8,3 mmol) weißer Feststoff, HPLC: 33,81 % B

## 3d) Bzls-D-Cha-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

2 g (6,146 mmol) Bzls-D-Cha-OH und 3,13 g (6,146 mmol) H-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl wurden in 50 ml DMF gelöst und bei 0 °C mit 3,198 g (6,146 mmol) PyBop und 3,2 ml (18,43 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 30 min bei 0 °C und weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und anschließend mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 3,7 g (Rohprodukt), HPLC: 61,84 % B

## 3e) Bzls-D-Cha-Lys-4-(Amidino)Benzylamid x 2 HBr

3,5 g (Rohprodukt) Bzls-D-Cha-Lys(Z)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden in 175 ml 90 % Essigsäure gelöst, dazu wurden 400 mg Katalysator (10 % Pd/C) gegeben. Der Ansatz wurde 6 h bei Raumtemperatur und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel eingeengt, der Rückstand mit Toluol versetzt und das Lösungsmittel wieder im Vakuum eingeengt. Zu dem Rückstand wurden 50 ml Bromwasserstoff-Lösung (33 %ig in Essigsäure) gegeben, der Ansatz wurde gelegentlich umgeschüttelt. Nach einer Stunde wurde das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und mehrmals mit Diethylether gewaschen. Der erhaltene Feststoff (schwach gelblich) wurde im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 2,3 g Rohprodukt, HPLC: 34,77 % B.

Ein Teil des Rohproduktes wurde mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

MS: berechnet 584,31 (monoisotopic), gefunden 585,4 [M+H]<sup>+</sup>

3f) Bzls-D-Cha-Lys(CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Hexaethyleneglycol-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-Boc)-4-(Amidino)Benzylamid x HBr

0,318 g (ca. 0,427 mmol) Rohprodukt an Bzls-D-Cha-Lys-4-(Amidino)Benzylamid x 2 HBr und 250 mg (0,4275 mmol) O-(N-Boc-2-Aminoethyl)-O'-(N-Diglycolyl)-2-Aminoethyl-Hexaethylenglycol (Novabiochem, Bestell-Nr: 01-63-0102) wurden in 10 ml

DMF gelöst. Unter Eiskühlung wurden 0,222 g (0,4275 mmol) PyBop und 149 µl (0,855 mmol) DIEA hinzugegeben. Der Ansatz wurde 15 min unter Eiskühlung und weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt und der Rückstand in ca. 350 ml Essigester und 75 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aufgenommen. Die Essigesterphase wurde noch einmal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 2 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, es wurde ein gelbes Öl erhalten, das ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt verwendet wurde.

Ausbeute: 446 mg, HPLC: 47,03 % B

Ein Teil der Verbindung wurde mit präparativer HPLC gereinigt.

3g) Bzls-D-Cha-Lys(CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Hexaethyleneglycol-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA

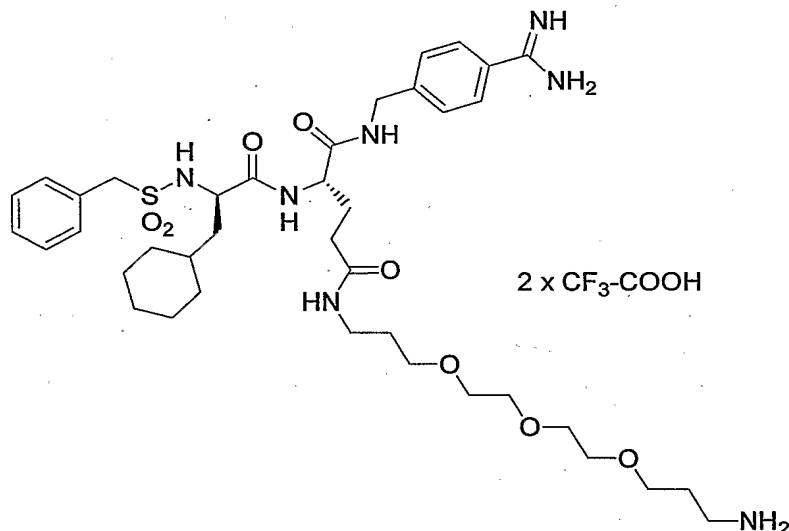
400 mg der Verbindung 3f (Rohprodukt an Bzls-D-Cha-Lys(CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Hexaethyleneglycol-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-Boc)-4-(Amidino)Benzylamid x HBr) wurden mit 10 ml 1 N HCl in Essigsäure versetzt. Nach einer Stunde bei Raumtemperatur wurde das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und mittels präparativer HPLC gereinigt.

Ausbeute: 210 mg, HPLC: 37,2 % B

MS: berechnet 1050,57 (monoisotopic), gefunden 1051,6 [M+H]<sup>+</sup>

#### Ausführungsbeispiel 4:

Synthese von Benzylsulfonyl-D-Cha-Glu(NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>)-4-Amba x 2 TFA



#### 4a) Boc-Glu(Obz)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

3,37 g (10 mmol) Boc-Glu(Obz)-OH wurden in 100 ml DMF gelöst und bei -15 °C mit 1,1 ml (10 mmol) NMM und 1,3 ml (10 mmol) CKIBE versetzt. Der Ansatz wurde 8 min bei -15°C gerührt, dann wurden 2,44 g (10 mmol) 4-(Acetyloxamidino)Benzylamin x HCl (hergestellt wie in WO 01/96286 A2 beschrieben) und nochmals 1,1 ml (10 mmol) NMM hinzugefügt. Der Ansatz wurde eine weitere Stunde bei -15 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Ansatz in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Verbindung aus Essigester kristallisiert.

Ausbeute: 3,8 g (7,2 mmol), HPLC: 52,34 % B

#### 4b) H-Glu(Obz)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl

3 g (6 mmol) Boc-Glu(Obz)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden mit 80 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Nach 45 min Stehen bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel teilweise eingeeengt und das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und nochmals mit Diethylether gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,5 g (5,4 mmol) weißer Feststoff, HPLC: 31,07 % B

#### 4c) Bzls-D-Cha-Glu(Obz)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

0,84 g (2,59 mmol) Bzls-D-Cha-OH und 1,2 g (2,59 mmol) H-Glu(Obz)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl wurden in 40 ml DMF gelöst und bei 0 °C mit

1,35 g (2,59 mmol) PyBop und 1,35 ml (7,77 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 30 min bei 0 °C und weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und anschließend mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1,35 g (Öl), HPLC: 63,16 % B

#### 4d) Bzls-D-Cha-Glu-4-(Amidino)Benzylamid x HCl

1,2 g Bzls-D-Cha-Glu(OBzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden in 200 ml 90 % Essigsäure gelöst, dazu wurden 200 mg Katalysator (10 % Pd/C) gegeben. Der Ansatz wurde 24 h bei 45 °C und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel eingeeengt, der Rückstand mit Toluol versetzt und das Lösungsmittel wieder im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde in 25 ml 1 N HCl/Eisessig-Lösung gelöst und das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, abgesaugt und mehrmals mit Diethylether gewaschen. Der erhaltene Feststoff wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,82 g, HPLC: 40,55 % B.

Ein Teil des Rohproduktes wurde mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

MS: berechnet 585,26 (monoisotopic), gefunden 586,5 [M+H]<sup>+</sup>

#### 4e) Bzls-D-Cha-Glu(NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-NH-Boc)-4-(Amidino) Benzylamid x HCl

0,4 g (0,643 mmol) Bzls-D-Cha-Glu-4-(Amidino)Benzylamid x HCl und 0,216 g (0,675 mmol) Boc-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> (bezogen von Quanta Biodesign, Powell, Ohio) wurden in 10 ml DMF gelöst und bei 0 °C mit 0,335 g (0,643 mmol) PyBop und 224 µl (1,29 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 30 min bei 0 °C und weitere 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in einer Mischung aus Essigester und gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aufgenommen. Die Mischung wurde im Scheidetrichter geschüttelt und die basische Phase abgetrennt. Die Essigesterphase wurde nochmals mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Der Essigester wurde im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand ohne Reinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 0,35 g (Öl), HPLC: 49,17 % B



4f) Bzls-D-Cha-Glu(NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>)-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA

Das Rohprodukt der Verbindung 4e (Bzls-D-Cha-Glu(NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-[O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-NH-Boc)-4-(Amidino)Benzylamid x HCl) wurde mit 20 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Der Ansatz wurde 45 min stehen gelassen und danach das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt und abgesaugt. Der erhaltene Feststoff wurde mittel präparativer reversed-phase HPLC gereinigt und das Produkt lyophilisiert.

Ausbeute: 0,21 g Lyophilisat, HPLC: 36,33 % B

10 MS: berechnet 787,43 (monoisotopic), gefunden 788,5 [M+H]<sup>+</sup>

#### Ausführungsbeispiel 5:

Bestimmung der Hemmkonstanten (K<sub>i</sub>-Werte in µM)

Die Bestimmung der Hemmwirkung für die einzelnen Enzyme wurde analog einer bereits früher beschriebenen Methode durchgeführt (Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40, 3091-3099, 1997).

Speziell für die Bestimmung der Hemmung von PK wurden 200 µl Tris-Puffer (0,05 M, 0,154 M NaCl, 5 % Ethanol, pH 8,0; enthält den Inhibitor), 50 µl Substrat (Bzl-Pro-Phe-Arg-pNA in H<sub>2</sub>O) und 25 µl PK bei 25 °C inkubiert. Nach 3 min wurde die Reaktion durch Zugabe von 25 µl Essigsäure (50%) unterbrochen und die Absorption bei 405 nm mittels Microplate Reader (Labystems iEMS Reader MF) bestimmt. Die K<sub>i</sub>-Werte wurden nach Dixon (Biochem. J. 55, 170-171, 1953) durch lineare Regression mittels eines Computerprogramms ermittelt. Die K<sub>i</sub>-Werte sind das Mittel aus mindestens drei Bestimmungen.

Die Bestimmung der Hemmung von Faktor XIa und Faktor XIIa erfolgte nach analoger Art und Weise. Im Falle der Bestimmung der Hemmkonstanten für humanen Faktor XIa (Haemochrom Diagnostica GmbH, Essen, Deutschland) wurde H-D-Lys(Z)-Pro-Arg-pNA (Chromozym PCa, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) als Substrat verwendet.

Für die Messung der Inhibierungskonstanten des humanen Faktors XIIa (Haemochrom Diagnostica GmbH, Essen, Deutschland) wurde H-D-HHT-Gly-Arg-pNA (Chromozym XII, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) als Substrat eingesetzt.

Tabelle 1: Hemmung von PK, Faktor XIIa, Faktor XIa und Thrombin durch Verbindungen vom Typ (R)-Benzylsulfonyl-D-Ser-Aaa-4-Amba

Nr.	Aaa	R	K <sub>i</sub> , $\mu$ M			
			PK	F XIIa	F XIa	Thrombin
1	Gly	H	1,7	16	2,2	13
2	Ala	H	0,070	9,2	0,11	0,11
3	Pro	H	0,054	5,1	0,10	0,012
4	Asp	H	3,7	> 1000	n. b.	> 1000
5	Glu	H	1,1	> 1000	n. b.	38
6	Gln	H	0,047	25	0,13	0,49
7	hGlu	H	20	> 1000	11	> 1000
8	Dap	H	0,050	15	0,39	0,65
9	Dap(Z)	H	0,042	13	0,28	6,9
10	Lys	H	0,016	21	0,89	4,3
11	Lys(Z)	H	0,0035	15	0,3	0,18
12	Arg	H	0,079	16	0,77	4,7
13	Thr	H	0,24	51	0,25	4,0
14	Thr(Bzl)	H	0,091	23	0,33	0,30
15	Ser	H	0,16	80	0,30	14
16	Ser(Bzl)	H	0,025	9,8	0,30	0,48
17	hSer	H	0,020	> 1000	n. b.	8,5
18	Phe	H	0,021	0,97	0,92	1,6
19	hPhe	H	0,048	2,8	0,084	1,2
20	Gly	4-COOH	0,70	> 1000	0,60	170
21	Gly	4-COOMe	4,2	42	8,1	9,4
22	Ala	4-COOH	0,016	17	0,015	2,3
23	Ser	4-COOH	0,029	> 1000	0,17	120
24	Ser	4-COOMe	0,16	19	0,87	4,2
25	Gly	4-AMe	6,3	17	6,0	8,0

Tabelle 2: Hemmung von PK, Faktor XIIa, Faktor XIa und Thrombin durch Verbindungen vom Typ (R)-Benzylsulfonyl-D-Ser(tBu)-Aaa-4-Amba

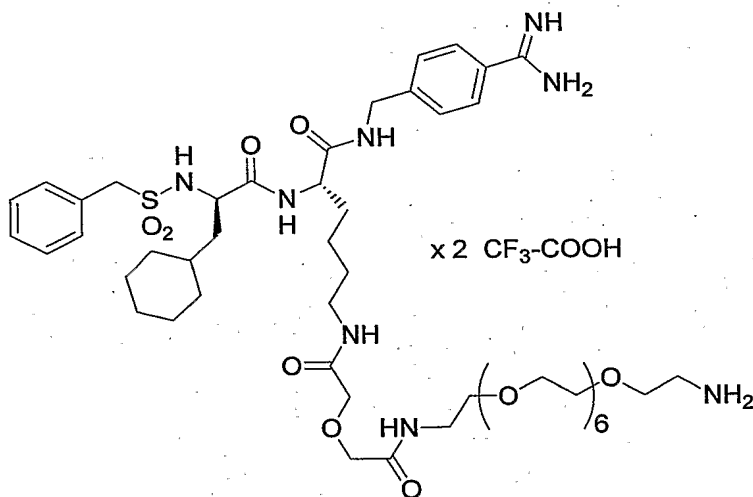
Nr.	Aaa	R	K <sub>i</sub> , $\mu$ M			
			PK	F XIIa	F XIa	Thrombin
26	Gly	H	0,34	2,6	1,4	0,22
27	Ala	H	0,061	2,0	0,030	0,0021
28	Pro	H	0,0065	0,49	0,036	0,0020
29	Asp	H	0,91	> 1000	0,39	6,0
30	Glu	H	0,36	19	0,079	2,6
31	Gln	H	0,0092	6,3	0,067	0,021
32	hGlu	H	8,0	> 1000	8,2	> 1000
33	Dap	H	0,022	4,0	0,19	0,0094
34	Dap(Z)	H	0,025	0,93	0,31	0,37
35	Lys	H	0,0036	4,4	0,51	0,055
36	Lys(Z)	H	0,0094	5,4	0,48	0,024
37	Arg	H	0,040	2,6	0,34	0,065
38	Thr	H	0,032	14	n. b.	0,044
39	Thr(Bzl)	H	0,044	17	0,40	0,019
40	Ser	H	0,052	6,0	0,20	0,047
41	Ser(Bzl)	H	0,012	1,4	0,20	0,012
42	hSer	H	0,21	> 1000	0,74	13
43	hSer(Bzl)	H	0,0082	80	0,61	0,50
44	Phe	H	0,0055	4,6	0,26	0,16
45	hPhe	H	0,0045	1,3	0,083	0,048
46	Gly	4-COOH	0,029	7,5	n. b.	2,2
47	Gly	4-COOMe	1,1	4,8	1,6	0,36
48	Ala	4-COOH	0,0062	9,5	0,0069	0,044
49	Ala	4-COOMe	0,054	4,7	0,079	0,0043
50	Gly	4-AMe	4,0	1,8	2,9	0,12
51	Pro	4-CN	0,0094	1,6	0,0091	0,000064

**Tabelle 3:** Hemmung von PK, Faktor XIIa, Faktor XIa und Thrombin durch Verbindungen vom Typ (R)-Benzylsulfonyl-D-Cha-Aaa-4-Amba

Nr.	R	Aaa	K <sub>i</sub> , µM			
			PK	F XIIa	F XIa	Thrombin
52	3-CN	Pro	0,086	13	n. b.	< 0,0010
53	H	Lys	0,0023	0,83	0,15	0,010
54	H	Lys(Z)	0,020	4,0	0,34	0,015
55	3-AMe	Pro	0,090	0,47	0,17	0,0032
56	3-(Glut-NHCH <sub>2</sub> )	Pro	0,044	5,6	0,052	< 0,0010
57	H	Glu	0,030	4,0	0,020	0,081

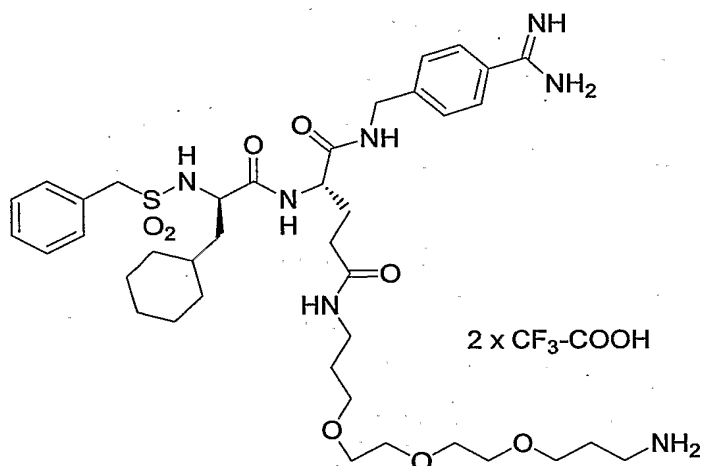
Hemmkonstanten für PEG-gekoppelte Verbindungen in µM:

5 Inhibitor Nr. 58:



PK 0,059 ; F XIIa 2,0, F XIa 0,23, Thrombin 0,0080

Inhibitor Nr. 59:



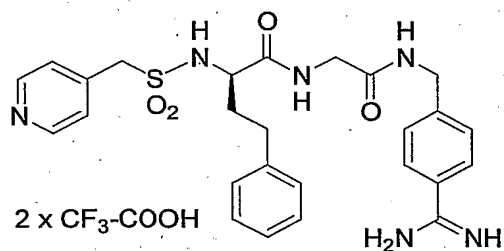
PK 0,015 ; F XIIa 0,98, F XIa 0,040, Thrombin 0,015

**Tabelle 4:** Hemmung von PK, Faktor XIIa, Faktor XIa und Thrombin durch Verbindungen vom Typ (4-R)-Benzylsulfonyl-P3-Aaa-4-Amba ((4-R) bezeichnet die 4-Position des Restes R in Tabelle 4 am Phenylring des Benzylsulfonylrestes)

Nr.	R	P3	Aaa	K <sub>i</sub> , μM			
				PK	F XIIa	F XIa	Thrombin
60	H	D-hAla(4-Pyr)	Glu(OBzl)	0,0055	0,094	0,031	0,17
61	COOH	D-Ser	Pro	0,0091	29	0,014	0,24
62	H	D-Ser(tBu)	Lys(Tfa)	0,011	6,1	n. b.	0,0029
63	H	D-Cha	Gly	0,011	0,70	25	0,0090
64	H	D-Ser(tBu)	His	0,014	61	n. b.	0,12
65	COOH	D-Ser(tBu)	Ser	0,015	17	0,030	2,0
66	CH <sub>2</sub> COOH	D-Ser(tBu)	Pro	0,016	4	n. b.	0,0018
67	H	D-hPhe	Ser	0,019	0,63	3,0	0,55
68	H	D-Ser(tBu)	Can	0,019	6,8	n. b.	0,038
69	H	D-hAla(4-Pyr)	Ser	0,020	1,6	n. b.	0,91
70	COOH	D-Ser(tBu)	Pro	0,025	2,4	n. b.	0,0023
71	H	D-Cha	Lys(Suc)	0,029	11	n. b.	0,0021

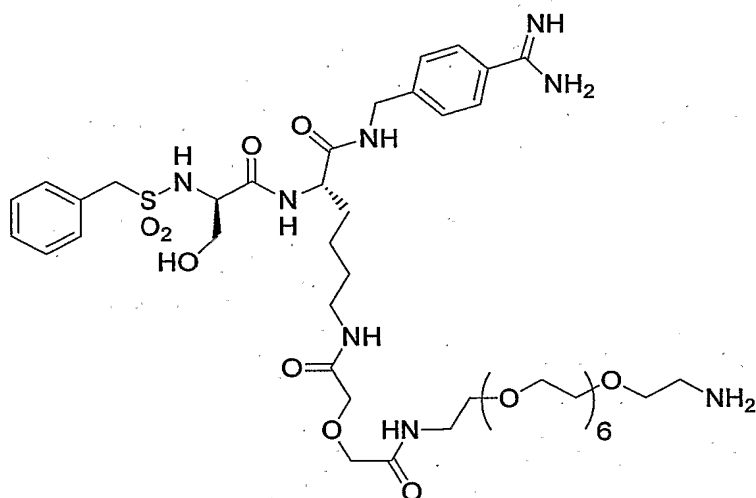
72	H	D-hTyr	Glu	0,22	0,36	0,028	19
73	H	D-hTyr	Ser	0,13	0,28	0,078	1,4
74	NO <sub>2</sub>	D-hPhe	Gly	0,051	0,39	0,093	0,71
75	H	D-hTyr	Gly	0,12	0,78	0,61	1,5
76	H	D-hPhe	Gly	0,39	0,15	0,27	0,047
77	H	D-Phe(3-Amidino)	Gly	0,082	0,19	0,25	0,085
78	NH <sub>2</sub>	D-hPhe	Gly	0,045	0,26	0,12	0,26
79	H	D-Phe(3-GuMe)	Gly	0,075	0,31	0,22	0,059
80	H	D-Norarginin	Gly	0,068	0,34	0,49	2,1
81	H	D-Arg	Gly	0,074	0,35	0,70	1,4
82	H	D-Cha	Gly	0,10	1,4	0,33	0,023
83	H	D-Indanylglycin	Gly	0,075	0,37	n. b.	0,14
84	COOCH <sub>3</sub>	D-Phe(3-Amidino)	Gly	0,14	0,38	0,70	0,53
85	H	D/L-hAla(4-Pyr)	Gly	0,13	0,40	1,1	2,0
86	H	D-Ser	Lys(Glut)	0,39	n. b.	n. b.	2,8

## Inhibitor 87:



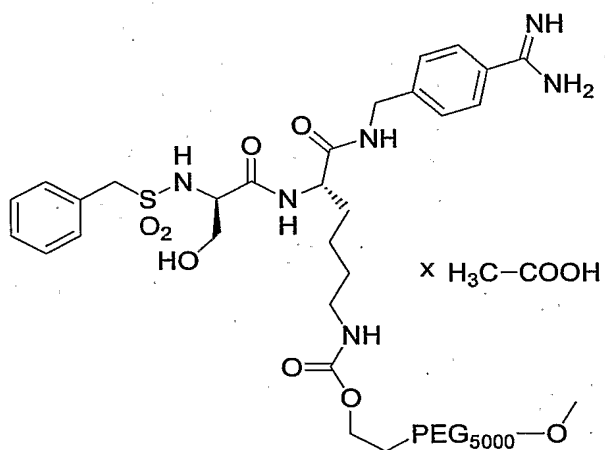
K<sub>i</sub>-Werte in  $\mu$ M: PK 0,42; F XIIa 0,16; F XIa 0,33, Thrombin 3,6

## Inhibitor 88



$K_i$ -Werte in  $\mu\text{M}$ : PK 0,22; F XIIa 21; F XIa 0,4, Thrombin 1,2

## 5 Inhibitor 89



$K_i$ -Werte in  $\mu\text{M}$ : PK 0,19; F XIIa 79; Thrombin 1,72. PEG<sub>5000</sub> bezeichnet ein Polyethylenglykol mit einem mittleren Molekulargewicht von 5000 Dalton.

Ausführungsbeispiel 6:

Verhinderung der Aktivierung von Prothrombin in Hirudin-antikoaguliertem Plasma

Venenblut von gesunden freiwilligen Spendern wurde unmittelbar nach der Entnahme mit Hirudinlösung (2000 ATE/ml 0,9 %iger NaCl-Lösung) im Verhältnis 10:1 gemischt und 10 min bei 250×g zentrifugiert. 950 µl Plasma wurden mit 20 µl Inhibitor-Lösung (5 bzw 0,5 mM) gemischt und für 5 h in Polypropylen-Röhrchen bei 37 °C inkubiert. Zur Verstärkung der Aktivierung an der künstlichen Oberfläche wurden 30 µl Kaolin (PTT-Reagenz, 1:1000 verdünnt; Roche Diagnostics, Penzberg, D) zugegeben.

Zur Bestimmung des Prothrombinfragments F 1+2 wurde ein Enzymimmunoassay (Enzygnost-F 1+2, DadeBehring GmbH, Marburg, Deutschland) nach dem Sandwich-Prinzip verwendet. Prothrombinfragment bindet an fixierte Antikörper gegen F 1+2. In einem zweiten Schritt binden Peroxidase-konjugierte Antikörper gegen Prothrombin und die gebundene Enzymaktivität wurde chromogen bestimmt. Die Konzentration an Prothrombinfragment F 1+2 wurde aus einer Eichkurve ermittelt.

Tabelle 5: Einfluss verschiedener Verbindungen auf die Aktivierung von Prothrombin in Hirudin-antikoaguliertem Plasma in Gefäßen aus Polypropylen unter Zugabe von Kaolin. Die Menge des nachgewiesenen Prothrombinfragments F 1+2 (in nM) nach 5 h in Gegenwart von Kaolin wurde als 100 % gesetzt.

Inhibitor Nr.	Prothrombinfragment F 1+2 (%)				
	+ Kaolin	- Kaolin	Kaolin+Inhibitor 100 µM	Kaolin+Inhibitor 10 µM	Kaolin+Inhibitor 1 µM
45	100	0,64	0,11	0,59	n. b.
11	100	0,49	0,15	110,9	n. b.
53	100	0,46	0,08	0,09	0,59
59	100	0,46	0,03	0,20	59,3
75	100	0,14	n. b.	0,01	0,07
73	100	0,14	n. b.	0,04	0,07

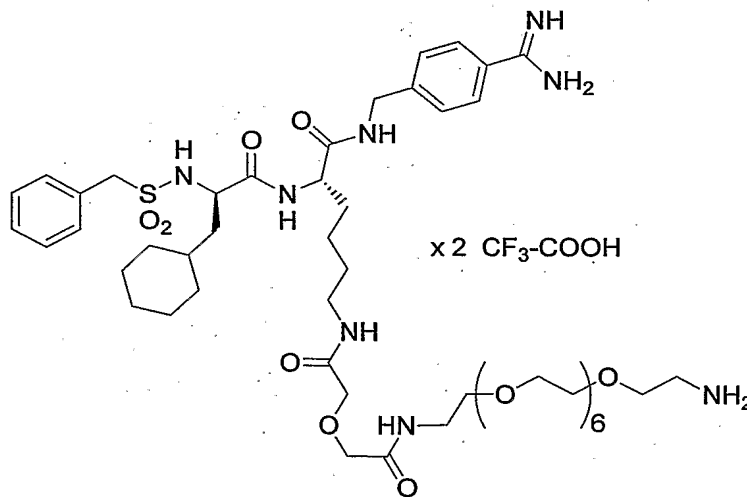


Ausführungsbeispiel 7:

Einsatz eines PK-Hemmstoffes zur Affinitätschromatographie als Modell für die Modifizierung einer künstlichen Oberfläche

Durch Kopplung des Inhibitors Benzylsulfonyl-D-Ser-Lys-4-Amba an CH-Sepharose 4B (Pharmacia) wurde das Material für eine Affinitätschromatographie hergestellt. Dazu wurden zunächst 16 g gequollene CH-Sepharose 4B in 65 ml MES-Puffer (0,1 M pH 4,75) suspendiert, anschließend wurde der Inhibitor (50 mg in 2 ml Puffer) zugegeben. Die Mischung wurde mit 2,837 g N-Cyclohexyl-N'-(2-Morpholinoethyl)-carboddiimid Metho-p-Toluolsulfonat (Acros Organics) versetzt (entspricht 0,1 M im Ansatz) und für 24 h bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde mit MES-Puffer und Wasser gewaschen und mit Tris-Puffer (0,05 M, enthält 0,75 M NaCl, pH 7,5) äquilibriert. Nach dem Packen und Äquilibrieren der Säule (1,4 x 19 cm) wurden 100 µg PK (Haemochrom Diagnostics, Essen, Germany) in 1 ml Puffer aufgetragen. Dann wurde die Säule zuerst mit Tris-Puffer und anschließend mit 3 M NaCl-Lösung gewaschen, dabei wurde kein PK eluiert. Durch einen anschließenden Benzamidin-Gradienten (0,1 – 2,5 M) wurde 41 % aktives PK eluiert.

Ein vergleichbares Resultat kann bei Verwendung einer Affinitätschromatographie-Säule erhalten werden, bei der der nachfolgend abgebildete Inhibitor kovalent gekoppelt wird.



**Patentansprüche**

1. Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel I



wobei P4 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte Benzylsulfonylgruppe ist, P3 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der D-Konfiguration ist,

10 P2 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der L-Konfiguration ist, und

15 P1 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamingruppe ist,

zur Inhibierung von Plasmakallikrein und / oder Faktor XIa und / oder Faktor XIIa.

2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Inhibierung von Plasmakallikrein.

- 20 3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Substituent am substituierten P4, P3, P2 und/oder P1

(a) Wasserstoff ist und/oder

(b) ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und/oder Brom ist, und/oder

(c) ein substituiertes oder nicht-substituiertes, verzweigtes oder linearer Alkylrest mit 1-6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen, insbesondere Methyl, oder

25 ein substituiertes oder nicht-substituiertes, verzweigtes oder linearer Aralkylrest mit 1-10 C-Atomen ist, wobei der Substituent des substituierten, verzweigten oder linearen Alkylrestes oder Aralkylrestes vorzugsweise eine Halogen-, Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino- und/oder eine Carboxylgruppe, gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl ist, und/oder

30 (d) eine Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino-, Methyloxycarbonyl-, Benzyl-, Benzyloxycarbonyl-, Aminomethyl- oder Glutaryl- oder Succinyl-Amidomethylgruppe ist und/oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-,

Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe ist gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe, die als unsubstituiertes oder mit einer Alkyl- oder Arylgruppe substituiertes Amid vorliegt.

5

4. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich eine Linkergruppe an P4 oder P2 gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe über einen wie in Anspruch 3 definierten Substituenten an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine -NH- oder eine -CO-Gruppe gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst ist, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome, insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, oder eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl modifiziert ist,

10

15

20

25

30

wobei bei Kopplung der Linkergruppe an P4 über einen Substituenten der Substituent vorzugsweise eine -NH-Gruppe, -NH-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -CO-Gruppe, eine -CO-Alkyl-Gruppe mit 2-6 C-Atomen, insbesondere -CO-Methyl, eine -CO-O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -S-Gruppe, eine -S-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -SO<sub>2</sub>-Gruppe oder eine -SO<sub>2</sub>-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbeson-

dere Methyl ist oder wobei, bei Kopplung der Linkergruppe an P2, P2 vorzugsweise

(a) Lysin oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Ornithin, Homolysin,  $\alpha$ - $\gamma$ -Diaminobuttersäure,  $\alpha$ - $\beta$ -Diaminopropionsäure,  $\alpha$ -Diaminoglycin oder

(b) Glutaminsäure oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Homoglutaminsäure oder

(c) Cystein oder Homocystein oder

(d) Serin oder Threonin ist.

5. Verwendung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Linkergruppe mit dem Substituenten zur Kopplung an P4 die allgemeine Formel II aufweist



wobei

U gleich eine  $H_2N$ -,  $HOOC-(CH_2)_n-CO-NH$ -,  $HOOC$ -,  $H_2N-(CH_2)_n-NH-CO$ - oder HS-Gruppe ist mit Z gleich  $-(CH_2)_n$ - mit  $n = 1$  bis 10, insbesondere 1-5, oder Z gleich ein Oligo- oder Polyalkylenglycol der allgemeinen Formel  $-(CH_2)_d-[O-CH_2-CH_2]_v-O-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$  oder  $-(CH_2)_d-[O-CH(CH_3)-CH_2]_v-O-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$  mit  $d = 1, 2, 3$  oder 4,  $v =$  eine ganze Zahl von 1 bis 1000, bevorzugt 1 bis 50, insbesondere 2 bis 10,  $m = 0, 1, 2, 3$  oder 4 und  $k = 0$  oder 1 oder

U gleich eine  $CH_3-O$ -Gruppe ist mit Z gleich ein Oligo- oder Polyalkylenglycol der allgemeinen Formel  $-(CH_2)_d-[O-CH_2-CH_2]_v-O-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$  oder  $-(CH_2)_d-[O-CH(CH_3)-CH_2]_v-O-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$  mit  $d = 1, 2, 3$  oder 4,  $v =$  eine ganze Zahl von 1 bis 1000, bevorzugt 1 bis 50, insbesondere 2 bis 10,  $m = 0, 1, 2, 3$  oder 4 und  $k = 0$  oder 1 ist;

Y gleich eine  $-CO-NH$ -, eine  $-NH-CO$ -, eine  $-SO_2-NH$ -, eine  $-NH-SO_2$ -, eine  $-S-S$ - oder eine  $-S$ -Gruppe ist oder wenn U und Z nicht vorhanden sind gleich eine  $H_2N$ -,  $HOOC$ -,  $HS$ -,  $HO$ - oder Halogenalkyl-Gruppe ist;

X gleich eine  $-(CH_2)_n$ -Gruppe mit  $n = 0, 1, 2, 3$  oder  $4$ , insbesondere  $n = 1$  oder gleich eine  $-(CH_2)_n-O$ -Gruppe mit Bindung an den Benzylrest über den Sauerstoff und  $n = 1, 2, 3$  oder  $4$  ist;

und die Kopplung der Linkergruppe an den Phenylring des Benzylrestes von X falls vorhanden oder von Y, wenn X nicht vorhanden ist, ausgeht.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, dass, wenn die Linkergruppe an P4 gekoppelt ist, P2 Glycin, Alanin, Serin, Prolin, Homoprolin oder Azetidincarbonsäure ist.

7. Verwendung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Linkergruppe an P2 gekoppelt wird, wobei P2 die allgemeine Formel III aufweist

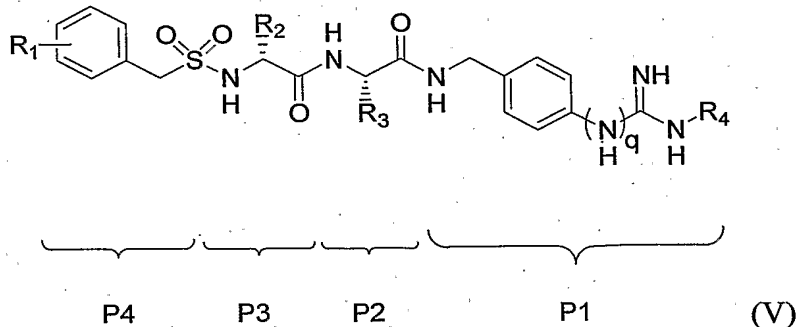


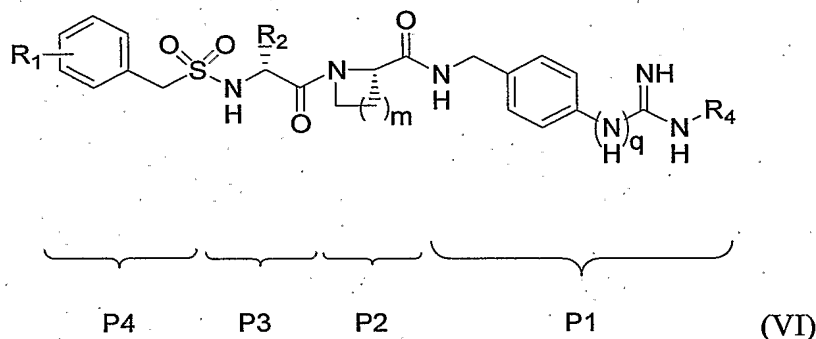
wobei  $q = 0, 1, 2, 3, 4$  oder  $5$  ist und D gleich Formel IV ist



wobei U, Z und Y die gleiche Bedeutung wie bei Formel II gemäß Anspruch 5 besitzen.

8. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte Amidino- oder Guanidinobenzylamin die allgemeine Formel V oder VI aufweist





mit  $m = 1$  bis  $3$  und  $q = 0$  oder  $1$ , insbesondere  $0$ ,

wobei  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  und/oder  $R_4$

(a) Wasserstoff ist und/oder

(b) ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und/oder Brom ist, und/oder

(c) ein substituierter oder nicht-substituierter, verzweigter oder linearer Alkylrest mit 1-6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen, insbesondere Methyl ist, wobei der Substituent des substituierten, verzweigten oder linearen Alkylrests vorzugsweise eine Halogen-, Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino- und/oder eine Carboxylgruppe, gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl ist und/oder

(d) eine Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino-, Methyloxycarbonyl-, Benzyl-, Benzyloxycarbonyl-, Aminomethyl- oder Glutaryl- oder Succinyl-Amidomethylgruppe ist und/oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe ist gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe, die als unsubstituiertes oder mit einer Alkyl- oder Arylgruppe substituiertes Amid vorliegt und/oder

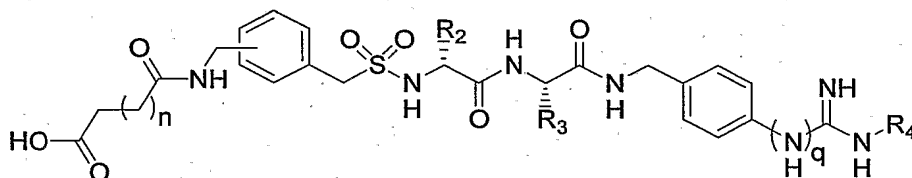
$R_1$  und/oder  $R_3$  eine Linkergruppe sein kann, wobei die Linkergruppe über einen Substituenten wie in Anspruch 3 definiert an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine -NH- oder eine -CO-Gruppe gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst ist, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome,

insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, oder eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl modifiziert ist und/oder

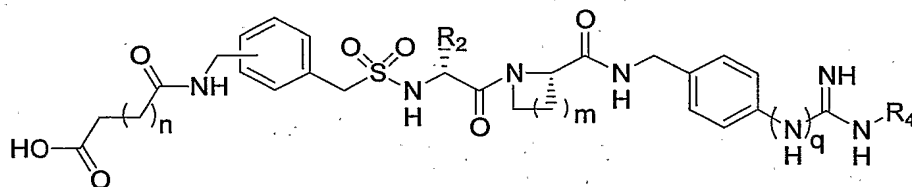
R<sub>1</sub> die Formel (II) wie in Anspruch 5 definiert und P2 mit R<sub>3</sub> die Formeln (III) und (IV), wie in Anspruch 7 definiert, aufweist, und

R<sub>4</sub> besonders bevorzugt Hydroxy, Amino und Alkoxycarbonyl ist.

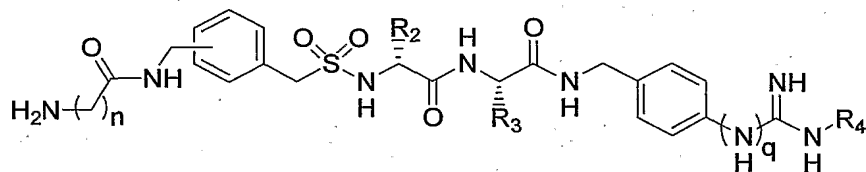
9. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II, wie in Anspruch 5 definiert, eine der folgenden Strukturen aufweist:



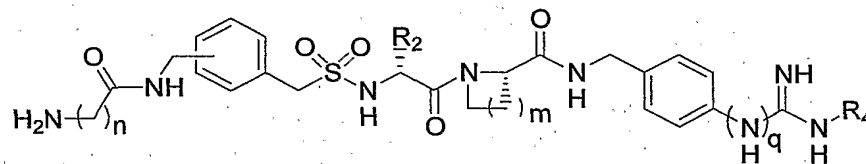
oder



oder

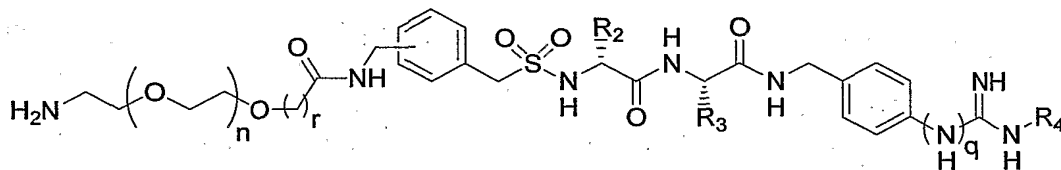


oder

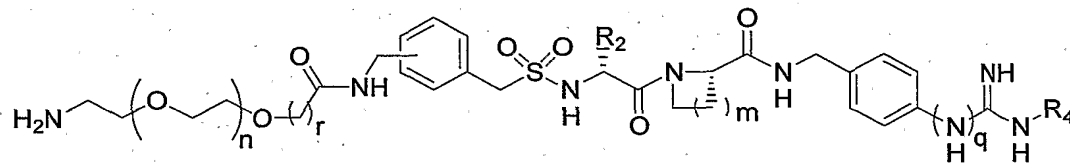


mit  $n = 1$  bis  $10$ ,  $m = 1$  bis  $3$  und  $q = 0$  oder  $1$ , insbesondere  $0$ , wobei  $R_2$ ,  $R_3$  und  $R_4$  die in Anspruch 8 genannten Bedeutungen besitzen.

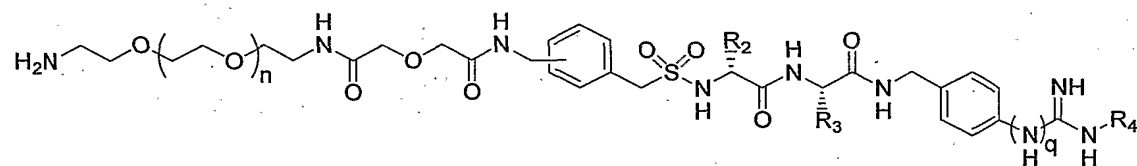
10. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II, wie in Anspruch 5 definiert, eine der folgenden Strukturen aufweist:



oder

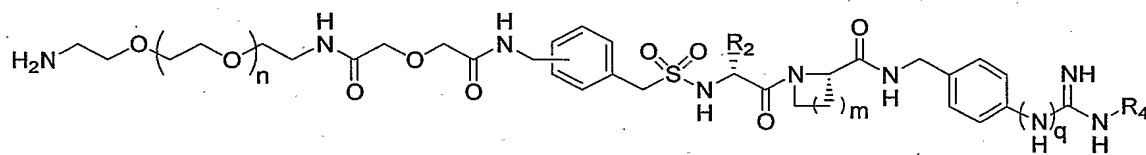


oder



oder

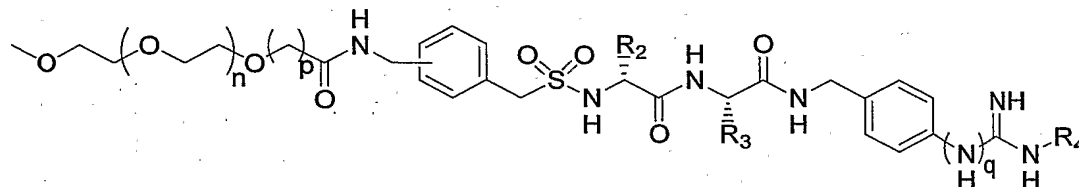




mit  $n = 1$  bis 1000,  $m = 1$  bis 3,  $r = 0$  bis 3 und  $q = 0$  oder 1, insbesondere 0, wobei  $R_2$ ,  $R_3$  und  $R_4$  die in Anspruch 8 genannten Bedeutungen besitzen.

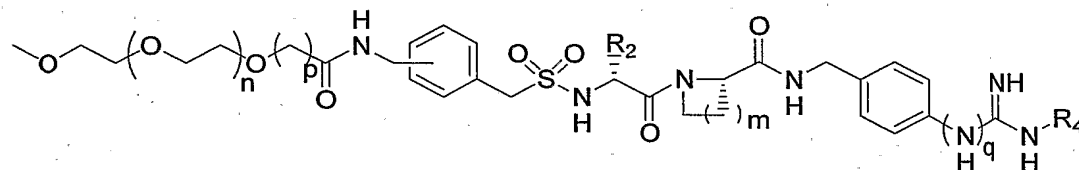
5

11. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II, wie in Anspruch 5 definiert, eine der folgenden Strukturen aufweist:

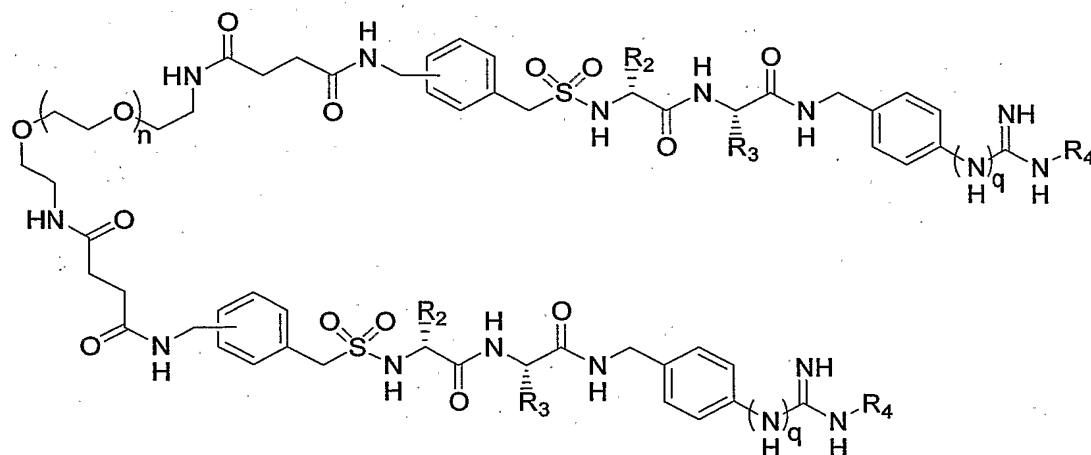


10

oder

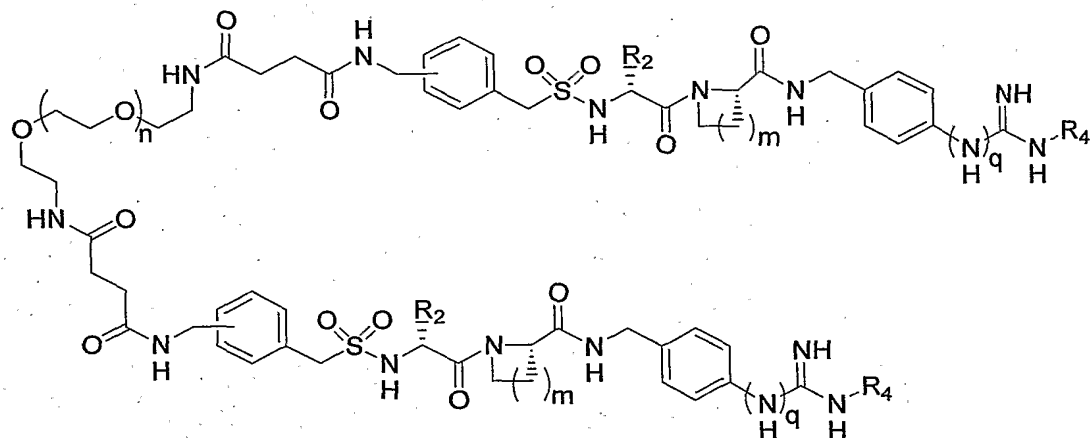


oder

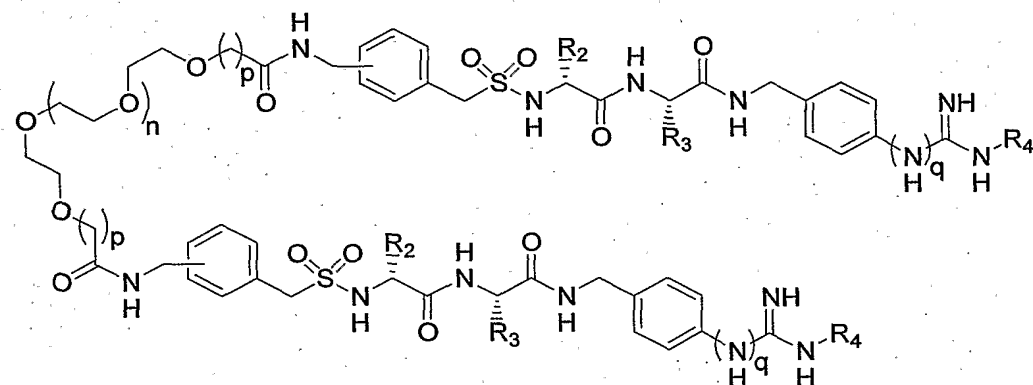


15

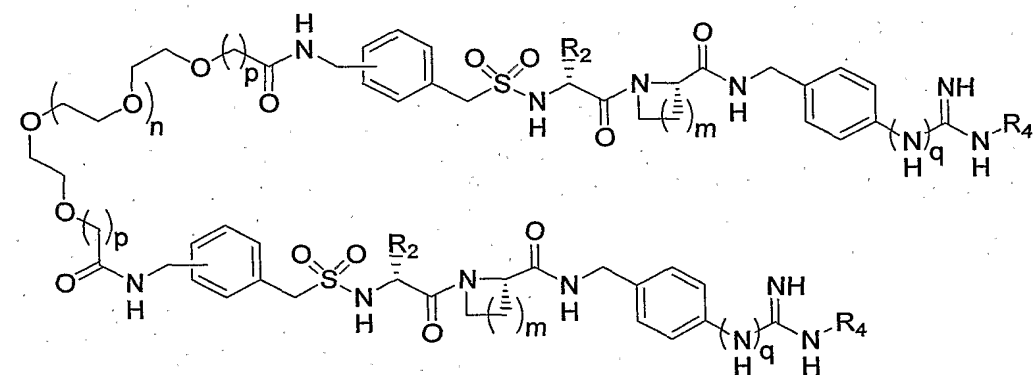
oder



oder



oder

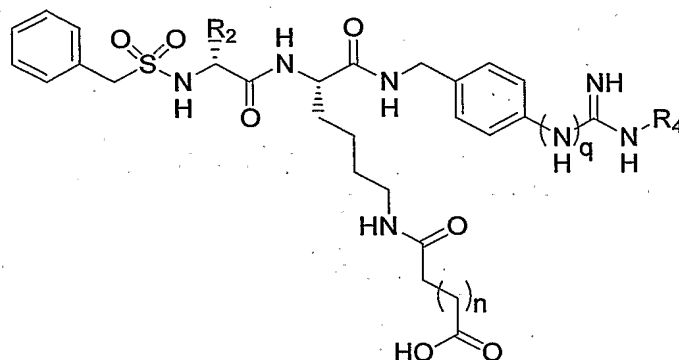


5

mit  $p = 0, 1, 2$  oder  $3$ ,  $q = 0$  oder  $1$ , insbesondere  $0$ ,  $n = 1$  bis  $1000$  und  $m = 1$  bis  $3$ , wobei  $R_2$ ,  $R_3$  und  $R_4$  die in Anspruch 8 genannten Bedeutungen besitzen.

- 10 12. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2, 3, 4, 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer

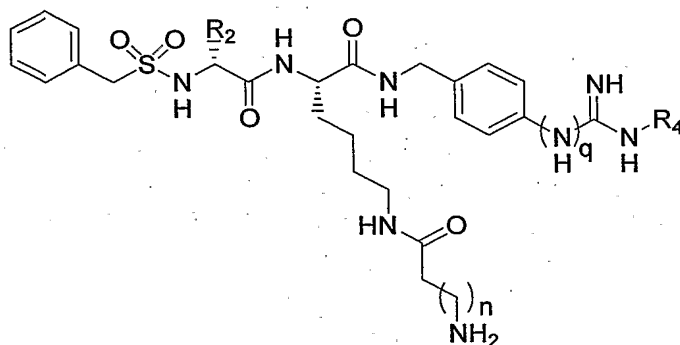
Linkergruppe an P2 gemäß der allgemeinen Formeln III und IV, wie in Anspruch 7 definiert, eine der folgenden Strukturen aufweist:



mit  $n = 0$  bis 5, bevorzugt 1 oder 2

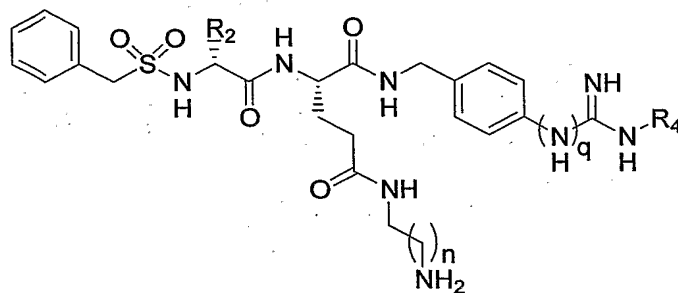
5

oder



mit  $n = 0$  bis 11,

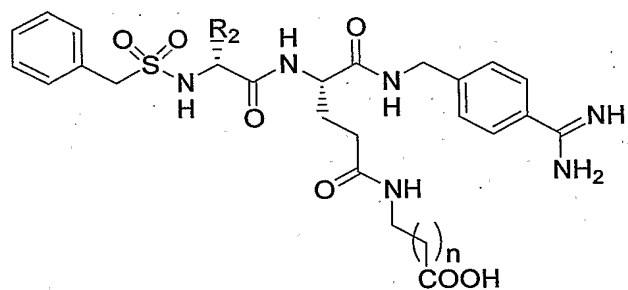
oder



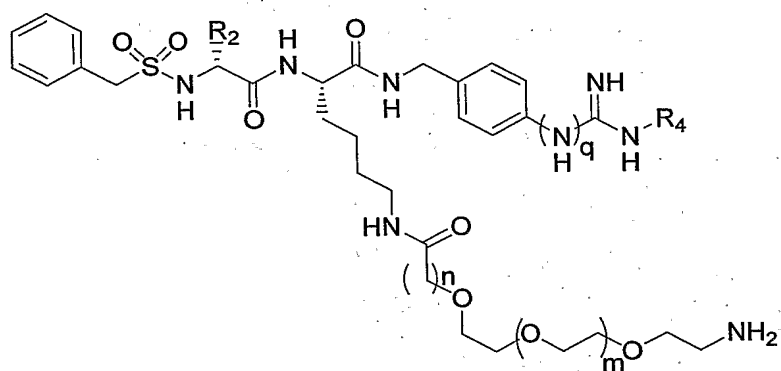
10

mit  $n = 1$  bis 6

oder

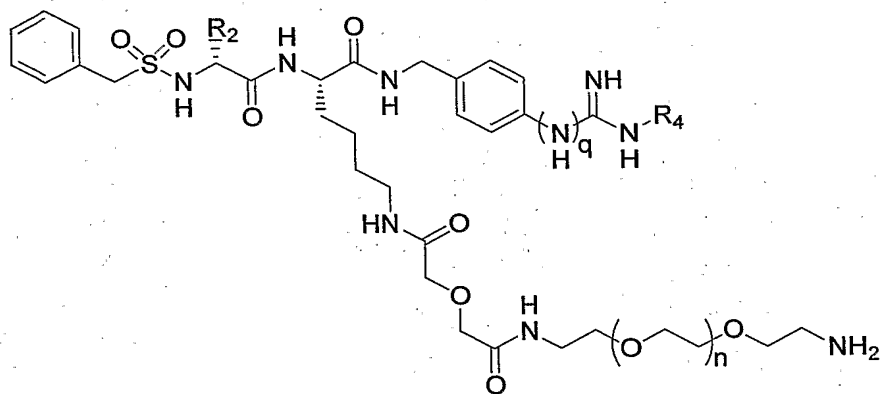


oder

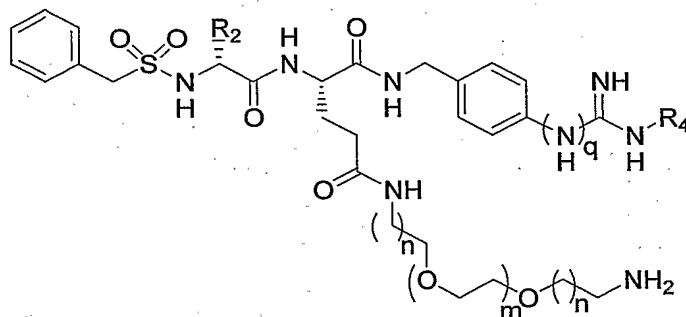
mit  $n = 0$  bis 3 und  $m = 0$  bis 1000

5

oder

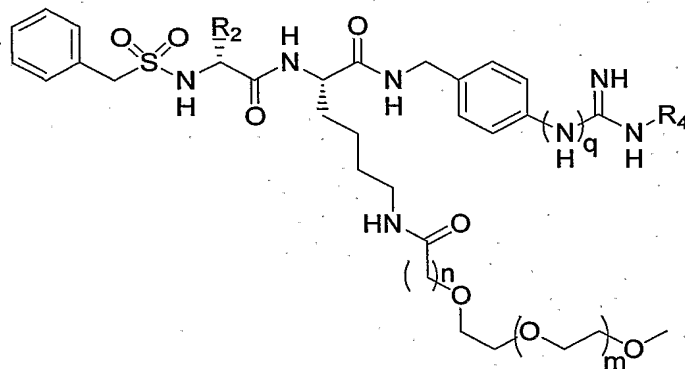
mit  $n = 1$  bis 1000

oder

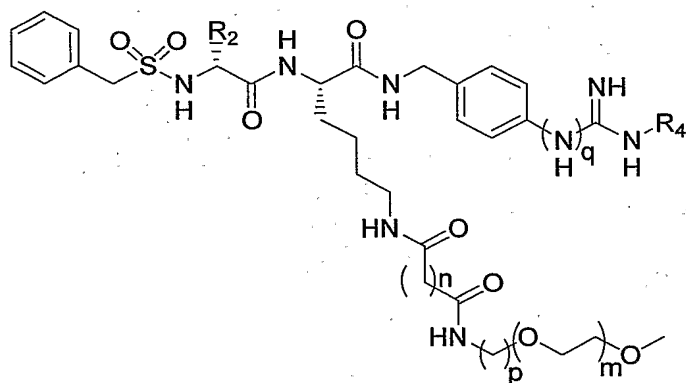


mit  $n = 1$  bis 3 und  $m=1$  bis 1000, wobei  $q$  jeweils gleich 0 oder 1, insbesondere 0 ist und  $R_2$  und  $R_4$  jeweils die in Anspruch 8 genannten Bedeutungen besitzen.

- 5 13. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2, 3, 4, 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P2 gemäß den allgemeinen Formeln III und IV, wie in Anspruch 7 definiert, eine der folgenden Strukturen aufweist:



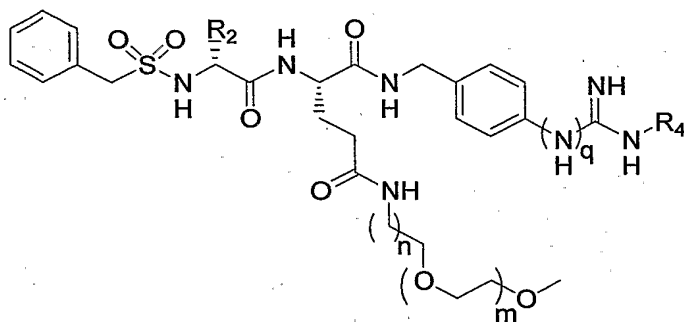
mit  $n = 0$  bis 4 und  $m = 10$  bis 1000  
oder



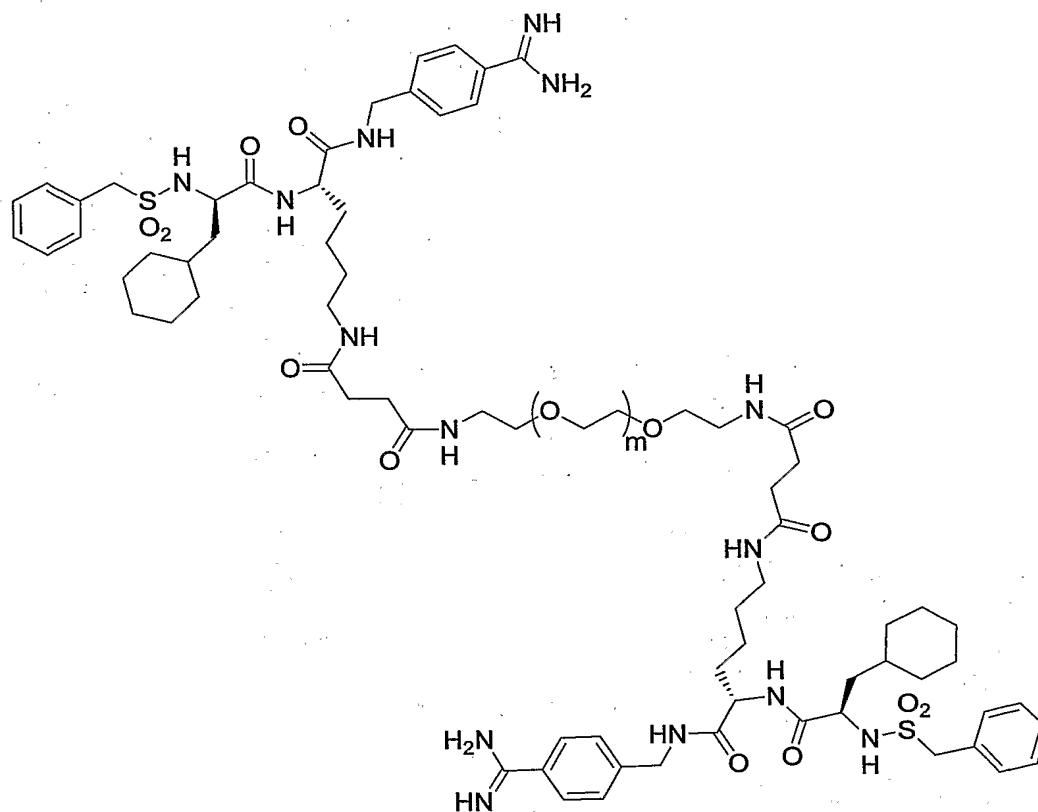
mit  $n = 1$  bis  $4$ ,  $p = 2$  bis  $4$  und  $m = 1$  bis  $1000$

oder

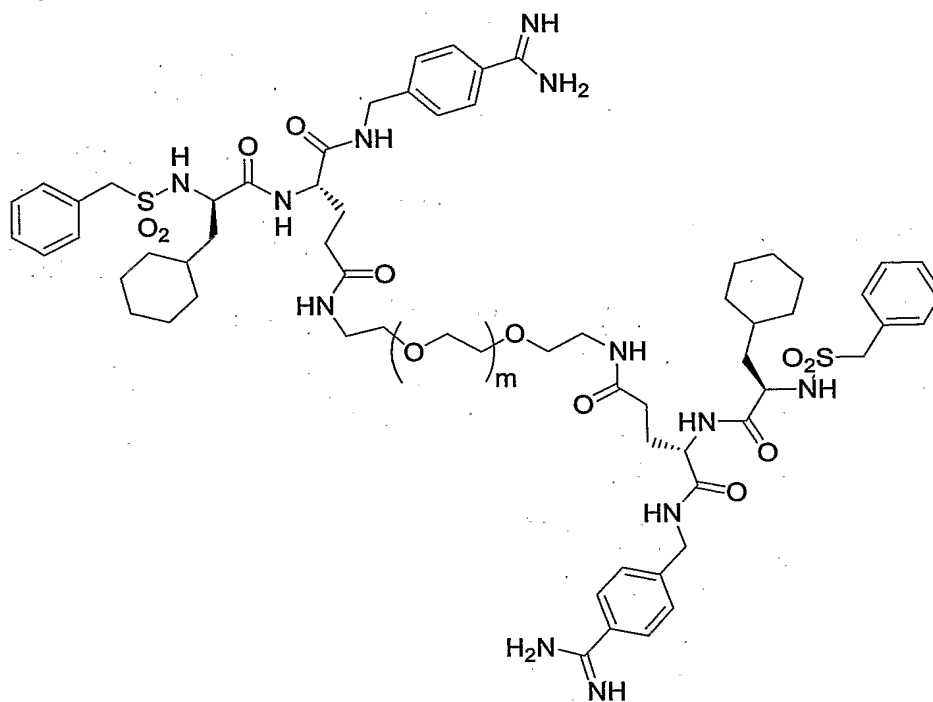
5



oder



oder



mit  $n=1$  bis 3 und  $m=10$  bis 1000,

wobei  $q$  gleich 0 oder 1, insbesondere 0 ist und  $R_2$  und  $R_4$  jeweils die in Anspruch 8 genannten Bedeutungen besitzen.

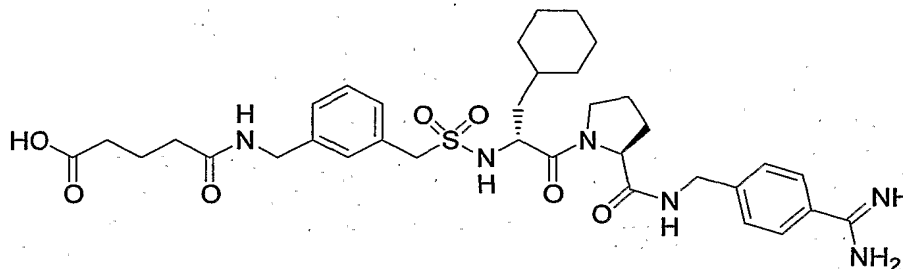
5

14. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2, 3, 4, 7, 8, 12 oder 13, wobei eine Kopplung an eine künstliche Oberfläche über P2 erfolgt, dadurch gekennzeichnet, dass der Substituent an P4 insbesondere H, ein Halogen, eine Aminogruppe, eine Hydroxygruppe oder eine lineare oder verzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen ist.

10

15. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 4 bis 6 und 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 gemäß der allgemeinen Formel II, wie in Anspruch 5 definiert, die folgende Struktur aufweist

15

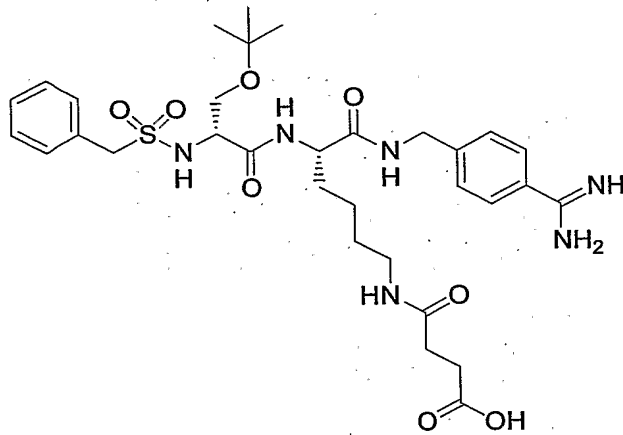


wobei D-Cha in Position P3 insbesondere auch D-Phe oder D-Ser(tBu) und Glutaryl an P4 auch Succinyl sein kann.

20

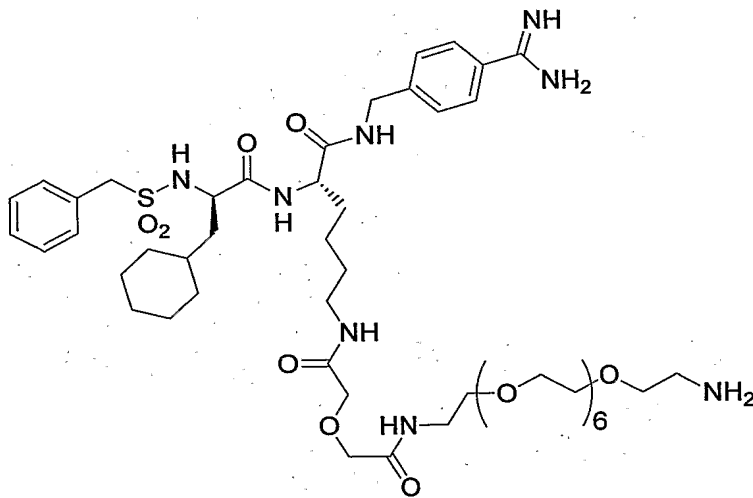
16. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2, 3, 4, 8, 12 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I eine der folgenden Strukturen aufweist



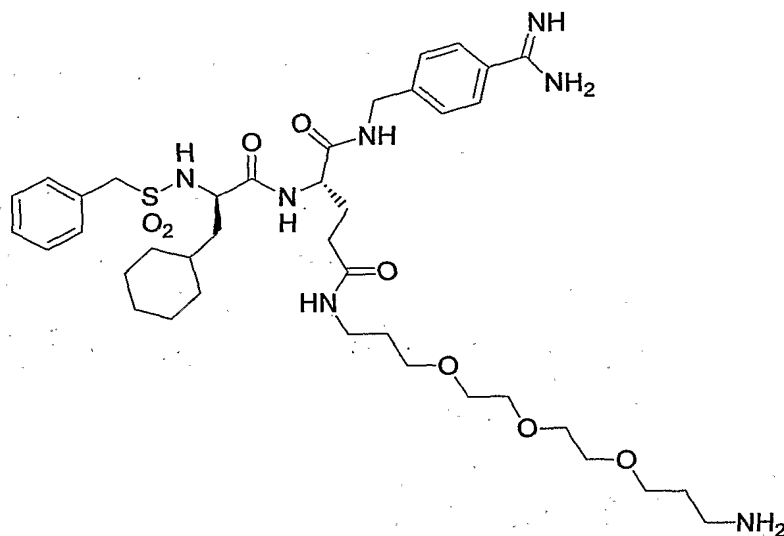


wobei D-Ser(tBu) in Position P3 insbesondere auch D-Cha oder D-Phe und Succinyl an P2 auch Glutaryl sein kann.

- 5 17. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2, 3, 4, 7, 8, 12 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I eine der folgenden Strukturen aufweist:



oder



wobei D-Cha in Position P3 insbesondere auch D-Phe oder D-Ser(tBu) sein kann.

- 5 18. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass in der allgemeinen Formel I P4 am Aromaten einen Rest R trägt, P3 D-Ser, D-Ser(tBu), D-Phe oder D-Cha und P2 eine natürliche oder unnatürliche Aminosäure Aaa bedeutet, wobei R gleich H-, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-COOH, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-COOMe, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-AMe, 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-Glutaryl-AMe oder 4-, 3- oder 2-, vorzugsweise 4- oder 3-CN ist und Aaa gleich Gly, Ala, Pro, Asp, Glu, Gln, hGlu, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser, Ser(Bzl), hSer, hSer(Bzl), Phe oder hPhe ist.
- 10
- 15 19. Verwendung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass bei P3 gleich D-Ser Aaa vorzugsweise Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Ser(Bzl), hSer, Phe oder hPhe, insbesondere Lys(Z) ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Ala oder Ser R gleich HOOC- ist;
- oder bei P3 gleich D-Ser(tBu) Aaa gleich Pro, Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser(Bzl), hSer(Bzl), Phe oder hPhe, insbesondere Pro, Gln, Lys, Lys(Z), hSer(Bzl), Phe oder hPhe ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Gly oder Ala R gleich HOOC- ist oder bei Aaa gleich Pro R gleich CN- ist;
- 20

oder bei P3 gleich D-Cha Aaa gleich Lys oder Glu ist und R gleich H oder bei Aaa gleich Pro R gleich Glutaryl-AMe ist, insbesondere bei Aaa gleich  $-\text{NH}-\text{CH}[\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-(\text{CH}_2)_2]_3-\text{CH}_2-\text{NH}_2]-\text{CO}-$  R gleich H ist.

- 5 20. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1-19, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin in Form eines Salzes, insbesondere als Salz einer Mineralsäure beispielsweise Schwefelsäure oder Salzsäure oder einer geeigneten organischen Säure beispielsweise Essigsäure, Ameisensäure, Methylsulfonsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure oder Trifluoressigsäure, insbesondere als Hydrochlorid, Sulfat oder Acetat vorliegt.
- 10
21. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1-20, dadurch gekennzeichnet, dass eine  $\text{H}_2\text{N}$ -Gruppe einer an das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gekoppelten Linkergruppe mit einem Dicarbonsäureanhydrid, vorzugsweise dem Anhydrid der Bernsteinsäure oder der Glutarsäure unter Bildung einer  $\text{HOOC}$ -Gruppe umgesetzt werden kann oder dass eine  $\text{HOOC}$ -Gruppe einer an das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gekoppelten Linkergruppe mit einem Diamin unter Beibehaltung einer  $\text{H}_2\text{N}$ -Gruppe umgesetzt werden kann.
- 15
22. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, 12 oder 14 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die kovalent an P4 oder P2 gekoppelte Linkergruppe bei Vorhandensein einer zweiten funktionellen Gruppe, insbesondere einer substituierten oder unsubstituierten Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe, kovalent an eine künstliche Oberfläche oder, sofern es sich bei der Linkergruppe um ein Oligo- oder Polyalkylenglycol handelt, kovalent an ein zweites Molekül der allgemeinen Formel I gekoppelt ist.
- 20
23. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, 11, 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass die kovalent an P4 oder P2 gekoppelte Linkergruppe ein Oligo- oder Polyalkylenglycol ist, das an dem nicht an P4 oder P2 gekoppelten Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl oder mit ei-
- 25
- 30

nem zweiten Molekül der allgemeinen Formel I modifiziert sein kann, wobei die Linkergruppe durch Interaktion mit einer künstlichen Oberfläche nicht-kovalent an diese gekoppelt sein kann.

- 5 24. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, dass die künstliche Oberfläche aus Cellulose-Diacetat, Cellulose-Triacetat, Poly(ethersulfon), Poly(arylethersulfon), regenerierter Cellulose, Cuprophan, Hemophan, Poly(sulfon), Poly(acrylnitril), Poly(vinylalkohol), Poly(carbonat), Poly(amid), Poly(methylmethacrylat), Poly(ethylen-co-vinylalkohol) oder einem anderen in Geräten wie Dialysatoren, Oxygenatoren, Kathetern, Membranen und/oder den zu den Geräten gehörenden Schlauchsystemen und/oder Luftfallen für die Oberflächen, die mit Blut in Kontakt kommen, verwendeten Material besteht, wobei das Oberflächenmaterial für die kovalente Kopplung des Moleküls der allgemeinen Formel I über die an P4 oder P2 gekoppelte Linkergruppe gegebenenfalls mit funktionellen Gruppen, z.B. Aminogruppen, Aminoalkylgruppen, Carboxylgruppen, Carboxyalkylgruppen, Mercaptogruppen, Mercaptoalkylgruppen, Hydroxylgruppen, Hydroxyalkylgruppen modifiziert sind.
- 10
- 15
25. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 24 zur Verhinderung der Blutgerinnung an künstlichen Oberflächen von z.B. Geräten wie Dialysatoren, Oxygenatoren, Kathetern, Membranen und/oder den zu den Geräten gehörenden Schlauchsystemen und/oder Luftfallen.
- 20
26. Verwendung nach Anspruch 25 zur Verhinderung der Blutgerinnung an künstlichen Oberflächen durch kovalente oder nicht-kovalente Beschichtung der künstlichen Oberfläche(n) über eine Linkergruppe wie in einem der Ansprüche 4 bis 23 definiert.
- 25
27. Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin, wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 23 definiert, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanz und/oder Antithrombotikum zur Verhinderung
- 30

und/oder Behandlung von Herzinfarkt, Hirnschlag, Embolien, tiefen Beinvenenthrombosen z.B. nach Hüftgelenksoperationen und/oder Kniegelenksersatz, instabiler Angina pectoris, Komplikationen infolge von Angioplastie, insbesondere perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA).

5

28. Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin, wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 23 definiert, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanz und/oder Antithrombotikum zur Verhinderung und Therapie von disseminierter intravaskulärer Gerinnung, septischem Schock, Allergien, dem Postgastrektomiesyndrom, Arthritis und ARDS (adult respiratory distress syndrome).

10

29. Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin, wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 22 definiert, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Inhibition von Plasmakallikrein und/oder Faktor XIIa und/oder Faktor XIa in parenteraler Anwendungsform, insbesondere in intraarterieller, intravenöser, intramuskulärer oder subkutaner Form, in enteraler Anwendungsform, insbesondere zur oralen oder rektalen Anwendung oder in topischer Anwendungsform, insbesondere als Dermatikum.

15

20

30. Verwendung nach Anspruch 29 zur Inhibition von Plasmakallikrein.

31. Verwendung von acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin, wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 21 definiert, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Inhibition von Plasmakallikrein und/oder Faktor XIIa und/oder Faktor XIa insbesondere in Form einer Tablette, eines Dragées, einer Kapsel, eines Pellets, Suppositoriums, einer Lösung, insbesondere einer Injektions- oder Infusionslösung, von Augentropfen, Nasentropfen, eines Safts, einer Kapsel, einer Emulsion oder Suspension, eines Globuli, Styli, Aerosols, Puders, einer Paste, Creme oder Salbe.

25

30

32. Verwendung nach Anspruch 31 zur Inhibition von Plasmakallikrein.

33. Verwendung von acyliertem Amidinobenzylamin der allgemeinen Formel V oder VI, wie in Anspruch 8 definiert, mit  $R_4$  insbesondere gleich HO- und  $R_1$  und  $R_3$  keine Oligo- oder Polyalkylengruppe zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als Antikoagulanz und/oder Antithrombotikum, wie in mindestens einem der Ansprüche 27 bis 32 definiert, wobei der Wirkstoff in Form eines Prodrugs zur oralen Gabe vorliegt.

34. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte Amidino- oder Guanidinobenzylamin zur Inhibierung weiterer trypsinartiger Serinproteasen wie beispielsweise Thrombin, Faktor XIIa, Faktor XIa, Faktor Xa, Faktor IXa, Faktor VIIa, Urokinase, Tryptase und Plasmin sowie trypsinartiger Serinproteasen des Komplementsystems verwendet wird, insbesondere acylierte Amidino- oder Guanidinobenzylamine der allgemeinen Formel I mit einer Linkergruppe an P4 oder P2 wie in den Ansprüchen 4 bis 23 definiert.

35. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel I



wobei P4 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte Benzylsulfonylgruppe ist, P3 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der D-Konfiguration ist,

P2 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte, natürliche oder unnatürliche  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Iminosäure in der L-Konfiguration ist, und

P1 eine einfach oder mehrfach substituierte oder unsubstituierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamingruppe ist,

dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich eine Linkergruppe an P4 oder P2 gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe über einen wie in Anspruch 3 definierten Substi-

tuenten an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine -NH- oder eine -CO-Gruppe gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst ist, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome, insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, oder eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl modifiziert ist,

wobei bei Kopplung der Linkergruppe an P4 über einen Substituenten der Substituent vorzugsweise eine -NH-Gruppe, -NH-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -CO-Gruppe, eine -CO-Alkyl-Gruppe mit 2-6 C-Atomen, insbesondere -CO-Methyl, eine -CO-O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -S-Gruppe, eine -S-Alkyl-Gruppe mit 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -O-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl, eine -SO<sub>2</sub>-Gruppe oder eine -SO<sub>2</sub>-Alkyl-Gruppe mit 1-6 C-Atomen, insbesondere Methyl ist oder wobei, bei Kopplung der Linkergruppe an P2, P2 vorzugsweise

(a) Lysin oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Ornithin, Homolysin,  $\alpha$ - $\gamma$ -Diaminobuttersäure,  $\alpha$ - $\beta$ -Diaminopropionsäure,  $\alpha$ -Diaminoglycin oder

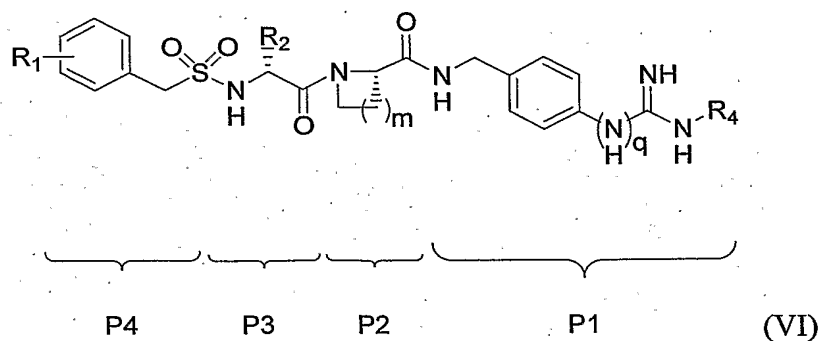
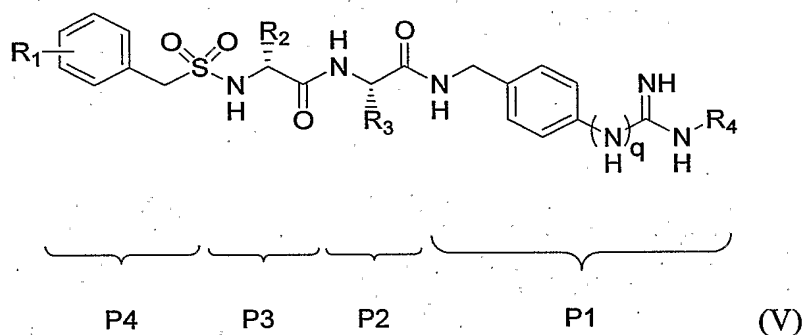
(b) Glutaminsäure oder dessen Homologe mit 1-5 C-Atomen in der Seitenkette, insbesondere Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Homoglutaminsäure oder

(c) Cystein oder Homocystein oder

(d) Serin oder Threonin ist.

36. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach Anspruch 35, dadurch gekennzeichnet, dass die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl modifiziert ist.

37. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach Anspruch 35 oder 36, dadurch gekennzeichnet, dass es die allgemeine Formel V oder VI, wie in Anspruch 8 definiert, aufweist



mit  $m = 1$  bis  $3$  und  $q = 0$  oder  $1$ , insbesondere  $0$ ,

wobei  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  und/oder  $R_4$



- (a) Wasserstoff ist und/oder
- (b) ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und/oder Brom ist, und/oder
- (c) ein substituierter oder nicht-substituierter, verzweigter oder linearer Alkylrest mit 1-6 C-Atomen, vorzugsweise 1-3 C-Atomen, insbesondere Methyl, oder ein substituierter oder nicht-substituierter, verzweigter oder linearer Aralkylrest mit 1-10 C-Atomen ist, wobei der Substituent des substituierten, verzweigten oder linearen Alkylrests oder Aralkylrests vorzugsweise eine Halogen-, Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino- und/oder eine Carboxylgruppe, gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl ist und/oder
- (d) eine Hydroxy-, Amino-, Cyano-, Amidino-, Guanidino-, Methyloxycarbonyl-, Benzyl-, Benzyloxycarbonyl-, Aminomethyl- oder Glutaryl- oder Succinyl-Amidomethylgruppe ist und/oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe ist gegebenenfalls verestert mit einem Niederalkylrest, insbesondere mit Methyl oder Ethyl oder eine Oxyalkylcarbonyl-, Carboxyl-, Carboxymethyl- oder Carboxyethylgruppe, die als unsubstituiertes oder mit einer Alkyl- oder Arylgruppe substituiertes Amid vorliegt und/oder

$R_1$  und/oder  $R_3$  eine Linkergruppe sein kann, wobei die Linkergruppe über einen Substituenten wie in Anspruch 2 definiert an P4 oder direkt an eine funktionelle Gruppe von P2, insbesondere über eine -NH- oder eine -CO-Gruppe gekoppelt ist, wobei die Linkergruppe vorzugsweise eine Dicarbonsäure, eine Aminocarbonsäure, ein Diamin, eine Disulfonsäure, oder eine Aminosulfonsäure mit einem Alkyl-, Aryl- oder Aralkylgrundgerüst ist, wobei das Alkylgrundgerüst 1 bis 12 C-Atome, insbesondere 2-6 C-Atome aufweist, das Arylgrundgerüst 6-10 C-Atome, insbesondere Phenyl aufweist, das Aralkylgrundgerüst 6-12 C-Atome, insbesondere Benzyl aufweist, oder eine Aminoalkyl- oder Carboxyalkylgruppe mit 2-12 C-Atomen, insbesondere 2-6 C-Atomen; oder wobei die Linkergruppe an P4 oder P2 eine Oligo- oder Polyalkylenglycolkette ist, insbesondere eine Poly- oder Oligoethylen- oder Poly- oder Oligopropylenglycolkette ist, wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an beiden Enden eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Carboxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist oder wobei das Oligo- oder Polyalkylenglycol zumindest an einem Ende eine funktionelle Gruppe, insbesondere eine substituierte oder unsubstituierte Amino-, Car-

boxyl- und/oder Mercaptogruppe aufweist und am anderen Ende mit einer Alkylgruppe mit 1-4 C-Atomen, insbesondere Methyl modifiziert ist und/oder

R<sub>1</sub> die Formel (II) wie in Anspruch 5 definiert und P2 mit R<sub>3</sub> die Formeln (III) und (IV), wie in Anspruch 7 definiert, aufweist, und

5 R<sub>4</sub> besonders bevorzugt Hydroxy, Amino und Alkoxycarbonyl ist.

38. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach mindestens einem der Ansprüche 35 bis 37, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Linkergruppe an P4 aufweist und eine wie in den Ansprüchen 9, 10, 11, 15 definierte Struktur aufweist.

10

39. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach mindestens einem der Ansprüche 35 bis 37, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Linkergruppe an P2 aufweist und eine wie in den Ansprüchen 12, 13 oder 17 definierte Struktur aufweist.

15

40. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß der allgemeinen Formel I



20

wobei P1, P2, P3 und P4 die in den Ansprüchen 1 bis 23 genannten Bedeutungen haben, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin kovalent oder nicht-kovalent an eine künstliche Oberfläche gebunden ist.

25

41. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin über eine Amid- oder Sulfonamidbindung, eine Disulfidbrücke oder die Alkylierung ei-

ner Mercaptogruppe, insbesondere über eine Amidbindung kovalent an die künstliche Oberfläche gebunden ist.

- 5 42. Acyliertes 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass das acylierte 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin über Interaktionen einer Oligo- oder Polyalkylenglykolgruppe, insbesondere einer Oligo- oder Polyethylenglykolgruppe mit der künstlichen Oberfläche nicht-kovalent an diese Oberfläche gebunden ist.
- 10 43. Künstliche Oberfläche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche mit acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin gemäß mindestens einem der Ansprüche 35 bis 39 oder mit acyliertem 4-Amidino- oder 4-Guanidinobenzylamin, wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 23 definiert, kovalent oder nicht-kovalent beschichtet ist.
- 15 44. Gerät, enthaltend eine künstliche Oberfläche gemäß Anspruch 43.
45. Gerät nach Anspruch 44, dadurch gekennzeichnet, dass das Gerät ein Dialysator, Oxygenator, Katheter oder eine Membran ist.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/000247

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/198 A61K31/401 A61K31/435 A61P7/02 A61P9/00  
A61P9/02 A61P9/10 A61P37/00 A61P37/08 A61P43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 02/062829 A (HARAMURA MASAYUKI ; KOGA TAKAKI (JP); SATO HARUHIKO (JP); KADONO SHOJI) 15 August 2002 (2002-08-15) abstract &amp; EP 1 364 960 A (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO LTD) 26 November 2003 (2003-11-26) abstract page 3, line 19 - page 7, line 41 examples 1-182 claims 1-30</p> <p style="text-align: center;">----- -/-</p>	<p>8-33, 37-45</p>

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May 2004

Date of mailing of the international search report

28/05/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Taylor, G.M.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/000247

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 02/14349 A (LEVY ODILE ESTHER ; WEINHOUSE MICHAEL I (US); CORVAS INT INC (US); MAD) 21 February 2002 (2002-02-21)</p> <p>abstract</p> <p>page 1, line 11 - line 20</p> <p>page 4, line 23 - page 5, line 29</p> <p>page 9, line 1 - line 9</p> <p>examples 1-110,A-C</p> <p>claims 1-87</p> <p>figures 1-17</p>	8-33, 37-45
X	<p>KÜNZEL, S; SCHWEINITZ, A; REISSMANN, S; STUERZEBECHER, J; STEINMETZER, T: "4-Amidinobenzylamine-Based Inhibitors of Urokinase"</p> <p>BIOORGANIC &amp; MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 12, 2002, pages 645-648, XP002193207</p> <p>ISSN: 0960-894X</p> <p>abstract</p> <p>tables 1-3</p>	8-33, 37-45
P,X	<p>WO 03/076391 A (SCHWEINITZ ANDREA ; STEINMETZER TORSTEN (DE); STUERZEBECHER JOERG (DE)) 18 September 2003 (2003-09-18)</p> <p>abstract</p> <p>page 12, line 16 - page 20, line 23</p> <p>examples 1-10</p> <p>claims 1-20</p>	8-33, 37-45
P,X	<p>WO 03/076457 A (SCHWEINITZ ANDREA ; STEINMETZER TORSTEN (DE); STUERZEBECHER JOERG (DE)) 18 September 2003 (2003-09-18)</p> <p>abstract</p> <p>page 1, line 3 - line 5</p> <p>examples 1-8</p> <p>claims 1-15</p>	8-33, 37-45
P,X	<p>DE 102 12 555 A (TECH UNI MUENCHEN ; UNIV SCHILLER JENA (DE))</p> <p>25 September 2003 (2003-09-25)</p> <p>the whole document</p>	8-33, 37-45
A	<p>STUERZEBECHER, J; PRASA, D; WIKSTROEM, P; VIEWEG, H: "Novel plasma kallikrein inhibitors of the benzamidine type"</p> <p>BRAZILIAN J MED BIOL RES, vol. 27, 1994, pages 1929-1934, XP009030092</p> <p>abstract</p> <p>tables 1,2</p>	8-33, 37-45

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/000247

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 02062829	A	15-08-2002	EP	1364960 A1	26-11-2003
			WO	02062829 A1	15-08-2002
			US	2004087511 A1	06-05-2004
<hr/>					
EP 1364960	A	26-11-2003	EP	1364960 A1	26-11-2003
			US	2004087511 A1	06-05-2004
			WO	02062829 A1	15-08-2002
<hr/>					
WO 0214349	A	21-02-2002	US	2002037857 A1	28-03-2002
			AU	8334701 A	25-02-2002
			CA	2387002 A1	21-02-2002
			JP	2004506648 T	04-03-2004
			WO	0214349 A2	21-02-2002
			EP	1182207 A2	27-02-2002
			ZA	200202825 A	10-07-2003
<hr/>					
WO 03076391	A	18-09-2003	DE	10210592 A1	02-10-2003
			WO	03076391 A2	18-09-2003
<hr/>					
WO 03076457	A	18-09-2003	DE	10210590 A1	02-10-2003
			WO	03076457 A1	18-09-2003
<hr/>					
DE 10212555	A	25-09-2003	DE	10212555 A1	25-09-2003
<hr/>					

Continuation of Box II.1

Although claims 1 to 26 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Continuation of Box II.2

## Claims 1-7 and 34-36

The current claims 1 to 7, 35 and 36 relate to an inordinately large number of possible compounds/products, of which only a small proportion are supported by the description in accordance with PCT Article 6 and/or can be regarded as having been disclosed in the application in accordance with PCT Article 5. In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. The search was therefore directed to the parts of the claims that appear to be supported and disclosed in the above sense, that is the compounds/products claimed in claim 8.

The current claim 34 relates to a product/method characterised by a desirable attribute or property, namely:

"... characterised in that the product is used to inhibit other trypsin-like serine proteases"

The claims therefore encompass all products, etc., that have this attribute or property, yet only a limited number of such products, etc. have adequate support in the description (PCT Article 5). In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Irrespective of this, the claims also lack the requisite clarity (PCT Article 6) since they attempt to define the product/method/compound/device in terms of the results which are to be achieved. This lack of clarity too is such that it is impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Moreover, the term "other trypsin-like serine proteases" is unclear.

Consequently no search was carried out in respect of this claim.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International

Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search may be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the defects that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT



Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/000247

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/198 A61K31/401 A61K31/435 A61P7/02 A61P9/00  
A61P9/02 A61P9/10 A61P37/00 A61P37/08 A61P43/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/062829 A (HARAMURA MASAYUKI ; KOGA TAKAKI (JP); SATO HARUHIKO (JP); KADONO SHOJI) 15. August 2002 (2002-08-15) Zusammenfassung & EP 1 364 960 A (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO LTD) 26. November 2003 (2003-11-26) Zusammenfassung Seite 3, Zeile 19 - Seite 7, Zeile 41 Beispiele 1-182 Ansprüche 1-30 ----- -/-	8-33, 37-45

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Mai 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

28/05/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Taylor, G.M.



C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/14349 A (LEVY ODILE ESTHER ; WEINHOUSE MICHAEL I (US); CORVAS INT INC (US); MAD) 21. Februar 2002 (2002-02-21) Zusammenfassung Seite 1, Zeile 11 - Zeile 20 Seite 4, Zeile 23 - Seite 5, Zeile 29 Seite 9, Zeile 1 - Zeile 9 Beispiele 1-110,A-C Ansprüche 1-87 Abbildungen 1-17	8-33, 37-45
X	KÜNZEL, S; SCHWEINITZ, A; REISSMANN, S; STUERZEBECHER, J; STEINMETZER, T: "4-Amidinobenzylamine-Based Inhibitors of Urokinase" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, Bd. 12, 2002, Seiten 645-648, XP002193207 ISSN: 0960-894X Zusammenfassung Tabellen 1-3	8-33, 37-45
P,X	WO 03/076391 A (SCHWEINITZ ANDREA ; STEINMETZER TORSTEN (DE); STUERZEBECHER JOERG (DE)) 18. September 2003 (2003-09-18) Zusammenfassung Seite 12, Zeile 16 - Seite 20, Zeile 23 Beispiele 1-10 Ansprüche 1-20	8-33, 37-45
P,X	WO 03/076457 A (SCHWEINITZ ANDREA ; STEINMETZER TORSTEN (DE); STUERZEBECHER JOERG (DE)) 18. September 2003 (2003-09-18) Zusammenfassung Seite 1, Zeile 3 - Zeile 5 Beispiele 1-8 Ansprüche 1-15	8-33, 37-45
P,X	DE 102 12 555 A (TECH UNI MUENCHEN ; UNIV SCHILLER JENA (DE)) 25. September 2003 (2003-09-25) das ganze Dokument	8-33, 37-45
A	STUERZEBECHER, J; PRASA, D; WIKSTROEM, P; VIEWEG, H: "Novel plasma kallikrein inhibitors of the benzamidine type" BRAZILIAN J MED BIOL RES, Bd. 27, 1994, Seiten 1929-1934, XP009030092 Zusammenfassung Tabellen 1,2	8-33, 37-45

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/000247

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 02062829 A	15-08-2002	EP 1364960 A1	26-11-2003
		WO 02062829 A1	15-08-2002
		US 2004087511 A1	06-05-2004
EP 1364960 A	26-11-2003	EP 1364960 A1	26-11-2003
		US 2004087511 A1	06-05-2004
		WO 02062829 A1	15-08-2002
WO 0214349 A	21-02-2002	US 2002037857 A1	28-03-2002
		AU 8334701 A	25-02-2002
		CA 2387002 A1	21-02-2002
		JP 2004506648 T	04-03-2004
		WO 0214349 A2	21-02-2002
		EP 1182207 A2	27-02-2002
		ZA 200202825 A	10-07-2003
WO 03076391 A	18-09-2003	DE 10210592 A1	02-10-2003
		WO 03076391 A2	18-09-2003
WO 03076457 A	18-09-2003	DE 10210590 A1	02-10-2003
		WO 03076457 A1	18-09-2003
DE 10212555 A	25-09-2003	DE 10212555 A1	25-09-2003

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## Fortsetzung von Feld II.1

Obwohl die Ansprüche 1-26 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

-----

## Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 1-7,34-36

Die geltenden Patentansprüche 1-7, 35 und 36 beziehen sich auf eine unverhältnismässig grosse Zahl möglicher Verbindungen/Produkte, von denen sich nur ein kleiner Anteil im Sinne von Artikel 6 PCT auf die Beschreibung stützen und/oder als im Sinne von Artikel 5 PCT in der Patentanmeldung offenbart gelten kann. Im vorliegenden Fall fehlt den Patentansprüchen die entsprechende Stütze und fehlt der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Masse, dass eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als gestützt und offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend, die Verbindungen/Produkte wie im Patentanspruch 8 beansprucht werden.

Der geltende Patentanspruch 34 bezieht sich auf ein Produkt/Verfahren, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich

"... dadurch gekennzeichnet, dass 'das Produkt! zur Inhibierung weiterer trypsinartiger Serinproteasen ... verwendet wird".

Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte etc., die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Artikel 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Masse, dass eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint.

Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Artikel 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, das Produkt/Verfahren/die Verbindung/Vorrichtung über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, dass er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht.

Darüber hinaus ist der Begriff "weiterer trypsinartiger Serinproteasen" unklar.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Demzufolge wurde eine Recherche für diesen Anspruch nicht durchgeführt.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.